

**Aus dem medizinischen Zentrum für Hautkrankheiten  
der Philipps-Universität Marburg**

Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. R. Happle

---

**Kinetik der minimalen Hemmkonzentration verschiedener  
Antimykotika gegenüber den klinisch isolierten Erregern der  
Onychomykosen während einer Beobachtungszeit von 20  
Wochen**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung eines Doktorgrades der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der  
Philipps-Universität Marburg  
vorgelegt

von

**Kai Straßmann**  
aus Wuppertal

**Marburg 2003**

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin  
der Philipps-Universität Marburg am 04.12.2003  
Gedruckt mit der Genehmigung des Fachbereiches

Dekan: Prof. Dr. B. Maisch  
Referent: Prof. Dr. I. Effendy  
Coreferent: Prof. Dr. K. M. Heeg

Meinen Eltern gewidmet

# Inhaltsverzeichnis

|  |    |
|--|----|
| 1. Einleitung  | 7  |
| 2. Onychomykosen   | 9  |
| 2.1. Geschichtlicher Rückblick und Epidemiologie           | 9  |
| 2.2. Erregerspektrum                                       | 11 |
| 2.3. Klinisches Bild                                       | 13 |
| 2.3.1. Distale und laterale subunguale Onychomykose (DLSO) | 14 |
| 2.3.2. Superfizielle weiße Onychomykose (SWO)              | 16 |
| 2.3.3. Proximale subunguale Onychomykose (PSO)             | 16 |
| 2.3.4. Endonyx Onychomykose                                | 18 |
| 2.3.5. Totale dystrophische Onychomykose (TDO)             | 18 |
| 2.4. Differentialdiagnosen                                 | 19 |
| 2.5. Prädisponierende Faktoren                             | 20 |
| 2.6. Lebensqualität  | 22 |
| 2.7. Diagnostik  | 23 |
| 2.7.1. Materialabnahme                                     | 23 |
| 2.7.2. Nativpräparat                                       | 24 |
| 2.7.3. Pilzkultur  | 24 |
| 2.8. Therapie  | 25 |
| 2.8.1. Atraumatische Nagelentfernung                       | 25 |
| 2.8.2. Topische Therapie                                   | 26 |
| 2.8.2.1. Amorolfin   | 26 |
| 2.8.2.2. Ciclopirox  | 27 |
| 2.8.3. Systemische Therapie                                | 29 |
| 2.8.3.1. Fluconazol  | 29 |
| 2.8.3.2. Itraconazol                                       | 31 |
| 2.8.3.3. Terbinafin  | 33 |

|        |  |    |
|--------|--|----|
| 3.     | Material und Methode   | 35 |
| 3.1.   | Patientenkollektiv   | 35 |
| 3.2.   | Befunderhebung und Patientenrekrutierung                         | 36 |
| 3.3.   | Abrasion   | 37 |
| 3.3.1. | Material   | 37 |
| 3.3.2. | Abrasion der erkrankten Nägel                                    | 37 |
| 3.4.   | Nativpräparat und Pilzkultur                                     | 41 |
| 3.4.1. | Material   | 41 |
| 3.4.2. | Anlegen und Bewertung der Nativpräparate                         | 41 |
| 3.4.3. | Anlegen der Pilzkulturen   | 42 |
| 3.5.   | Mikrodilutionstest   | 48 |
| 3.5.1. | Material   | 48 |
| 3.5.2. | Chemikalien und Reagenzien                                       | 49 |
| 3.5.3. | Vorgehen   | 49 |
| 3.5.4. | Herstellung der mit Antimykotika bestückten<br>Mikrotiterplatten | 50 |
| 3.5.5. | Herstellung des standardisierten Inokulums                       | 51 |
| 3.5.6. | Optisches Ablesen der minimalen<br>Hemmkonzentration             | 53 |
| 4.     | Ergebnisse   | 54 |
| 4.1.   | Demographische Befunde   | 54 |
| 4.1.1. | Bestandsdauer der Nagelveränderungen                             | 55 |
| 4.1.2. | Häufigkeitsverteilung mykotisch veränderter Zehnnägel            | 56 |
| 4.1.3. | Vorangegangene Therapien   | 58 |
| 4.2.   | Prädisponierende Faktoren  | 59 |
| 4.3.   | Erregerspektrum  | 60 |
| 4.4.   | Minimale Hemmkonzentration (MHK) der Antimykotika                | 66 |

|      |   |     |
|------|---|-----|
| 5.   | Diskussion  | 81  |
| 5.1. | Demographische Befunde  | 81  |
| 5.2. | Prädisponierende Faktoren   | 82  |
| 5.3. | Nativpräparate und Kulturen   | 83  |
| 5.4. | Erregerspektrum   | 84  |
| 5.5. | Überlebenszeit der Onychomykoseerreger unter ex vivo<br>Bedingungen | 85  |
| 5.6. | Minimale Hemmkonzentration der Antimykotika                         | 87  |
| 6.   | Zusammenfassung   | 92  |
| 7.   | Literaturverzeichnis  | 95  |
| 8.   | Anhang: Anamnesebogen, Patienteninformation                         | 106 |

# 1. Einleitung

Onychomykosen sind Pilzinfektionen des Nagelorgans durch humanpathogene Pilze, wobei klinisch meist nur Veränderungen der Nagelplatte zu sehen sind. Unter allen Nagelerkrankungen sind die Onychomykosen die häufigsten. In den vergangenen Jahrzehnten haben die Prävalenz und Inzidenz dieser Pilzinfektion weltweit zugenommen. Aufgrund einer Steigerung für das Bewusstseins für Ästhetik und Gesundheit in der Bevölkerung ist der Gang zum Arzt wegen einer Onychomykose heutzutage keine Seltenheit mehr. Studien in mehreren Ländern haben gezeigt, dass eine Onychomykose die Lebensqualität einschränken kann. Bedenkt man, dass sich in einem einzigen Nagel mehr Pilze als in mehreren Quadratmetern Körperoberfläche befinden, belasten Onychomykosen den Organismus mit Krankheitserregern. Jeder Onychomykosepatient ist theoretisch ein umweltbelastender Pilzträger sowie eine potentielle Infektionsquelle (54).

Aus den oben genannten Gründen sind Onychomykosen behandlungsbedürftig. Hierfür stehen heute gut wirksame topische bzw. systemische Antimykotika zur Verfügung. Die geläufigsten Wirkstoffe hierfür sind Amorolfin und Ciclopirox als topisch applizierbare Antimykotika. Fluconazol, Itraconazol und Terbinafin zählen zu den systemisch wirksamen Wirkstoffen. Fluconazol ist neuerdings auch zur Therapie der Nagelmykosen in Deutschland zugelassen.

Aufgrund der anatomischen Gegebenheiten des Nagelorgans und des langsamen Wachstums der Nagelplatte gestaltet sich die Behandlung der Onychomykosen als langfristig (54). Auch bei einer systemischen Therapie muss mit einer minimalen Behandlungszeit von 3 bis 4 Monaten gerechnet werden. Wegen der langen Behandlungszeit liegen die

Behandlungskosten vor allem für die systemische Therapie sehr hoch. Für Terbinafin liegen die Kosten durchschnittlich bei € 497,23. Bei Itraconazol lagen die Kosten zwischen € 508,20 (Pulstherapie) und € 974,47 (kontinuierliche Therapie) etwas höher. Auch für das topisch Antimykotikum Ciclopirox lagen die Behandlungskosten durchschnittlich noch bei € 375,44 (95). Trotz hervorragender Wirksamkeit unter in vitro Bedingungen werden in der Literatur für alle Antimykotika Therapieversager bis zu 20 % der Fälle beschrieben (59, 87).

Ziel dieser Studie war einerseits aufzuzeigen, ob Nagelspäne auch noch nach 20 Wochen ein potentiell Risiko für eine Infektion darstellen. Zum anderen soll untersucht werden, ob die Verweildauer der Erreger im Nagel bzw. in ex-vivo Bedingungen einen Einfluss auf die Empfindlichkeit dieser gegen eine Reihe von Antimykotika hat.



## 2. Onychomykosen

### 2.1. Geschichtlicher Rückblick und Epidemiologie

Die humane Mykologie in Deutschland begann mit der Beschreibung Schönleins der „Porrigo lupinosa“ bei Kindern im Jahr 1839, die heute Favus genannt wird. Schönlein dachte als erster an die Möglichkeit, dass „pflanzliche Parasiten“ Erkrankungen des Menschen hervorrufen können und dokumentierte dies mit seinen mikroskopischen Zeichnungen des Favuserregers (63, 77).

In den Jahren 1842-1845 beschrieb Remak (63) als erster den Pilz entsprechend den Regeln der Botanik und wies dessen Kontagiosität im Selbstversuch nach. Außerdem gelang ihm die Kultivierung des Favuserregers und gab diesem den Namen „Achorion Schönleini“. Somit gelten Schönlein und Remak als Begründer der deutschen klinischen Mykologie.



**Abb. 1: Johann Lukas Schönlein und Robert Remak (63)**

Baum und Meissner beschrieben 1853 erstmalig im Archiv für physiologische Heilkunde den Befall des Nagelorgans mit Pilzen und nannten dieses Krankheitsbild Onychomykose (63). Die hauptsächlich im angelsächsischen Sprachraum gebräuchliche Bezeichnung *Tinea unguium* beschreibt einen Nagelbefall mit lediglich Epidermophyton-, Microsporum- und Trichophytonarten. Der Begriff Onychomykose bezeichnet einen Pilzbefall des Nagels mit jeglicher Art von Pilzen (22).

Anfang des 20. Jahrhundert waren Onychomykosen in Europa, im Gegensatz zu Nordamerika, eine seltene Erkrankung (18, 75). Während des ersten Weltkrieges nahmen die Dermatophyten durch Trichophytonarten zwar zu, die Zahl der registrierten Onychomykosen blieb aber konstant (43). Im zweiten Weltkrieg nahmen Mykosen der Haut und der Nägel aufgrund schlechter hygienischer Verhältnisse zu (39).

Insgesamt nahm der Anteil der Onychomykosen gemessen an allen Dermatomykosen im Laufe der letzten 90 Jahre deutlich zu. Während in Paris 1910 der Anteil der Onychomykosen an allen Dermatomykosen nur 0,2 % betrug, waren es in Hamburg 1949 10 % und in Brüssel 1980 30%. Dies kann unter anderem durch ein besseres Krankheitsverständnis auf der Seite der Untersucher, als auch durch ein stärkeres kosmetisches Bewusstsein auf Seiten der Patienten erklärt werden (61).

Seebacher (86) gab die Häufigkeit der Onychomykosen in der Gesamtbevölkerung in den sechziger Jahren mit 13 % an. In neueren Publikationen von 1999 werden sogar Prävalenzen in Europa von 23 %, in Asien sogar von 37 % angegeben. Bewohner ländlicher Gebiete scheinen nicht so häufig befallen zu sein (96). Außerdem konnte gezeigt werden, dass bestimmte Berufsgruppen wie z.B. Bergarbeiter ein höheres Risiko haben, an einer Onychomykose zu erkranken (39).

In einigen Studien wird eine Bevorzugung des weiblichen Geschlechts beschrieben, bei anderen Publikationen gab es keine Bevorzugung des Geschlechts (39, 73).

## **2.2. Erregerspektrum**

Die Erreger der Onychomykose kommen ubiquitär vor und werden nach dem DHS-System nach Rieth (68, 71) in Dermatophyten, Hefepilze und Schimmelpilze eingeteilt. Diese Einteilung orientiert sich nicht an der botanischen Einteilung, sondern an klinischen und praktischen Gesichtspunkten.

Allgemein anerkannt ist, dass die Dermatophyten eine dominierende Stellung unter den Erregern der Onychomykose einnehmen (27, 39). Die Häufigkeiten von Dermatophytenisolierungen werden mit 30-90 % gegenüber dem Gesamtspektrum in den Jahren 1974-1994 angegeben (61). Hierbei ist besonders *Trichophyton rubrum* hervorzuheben, auf den 89 % der Dermatophyteninfektionen zurückfallen. Auf *Trichophyton mentagrophytes* entfallen knapp 10 %. *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton schönleinii*, *Trichophyton soudanenses*, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton verucosum* und *Trichophyton violaceum* können nur in Einzelfällen nachgewiesen werden (27, 46).

Über die Bedeutung von Hefen bei der Onychomykose gibt es unterschiedliche Auffassungen. In früheren Studien wurde die Häufigkeit der Hefepilz bedingten Onychomykosen mit 70 % angegeben (61). In neueren Studien wie z.B. dem Achilles Projekt (39) konnten diese Zahlen nicht bestätigt werden. Hier konnte nur in 10,8 % der Fälle eine Hefe isoliert werden. Unter den Hefepilzen ist vor allem die Bedeutung von

*Candida albicans* hervorzuheben. Andere Hefearten wie *Candida tropicalis* und *Candida parapsilosis* spielen eine untergeordnete Rolle. Bei Onychomykosen der Fingernägel sind die Hefen jedoch zuzunehmend von Bedeutung (27).

Auch die Bedeutung von Schimmelpilzen bei den Onychomykosen wird in der Literatur kontrovers diskutiert (22, 85, 88, 89, 94). Einige Autoren sind der Auffassung, dass Schimmelpilze nur in einem durch Dermatophyten vorgeschädigten Nagel wachsen können, da ihnen das enzymatische Besteck zur Infiltration des Nagelkeratins fehlt. Schönborn (85) konnte aber nachweisen, dass einige Schimmelarten *in vitro* tierisches Keratin befallen können. Einer der mit am häufigsten isolierten Schimmelpilze ist *Scopulariopsis brevicaulis*, der oft bei älteren Patienten nachgewiesen werden kann. Auch dessen Rolle als Auslöser einer primären Onychomykose ist umstritten, obwohl *in vitro* eine Keratinophilie beobachtet wurde (85). Als gesicherte Onychomykoseerreger gelten *Hendersonula toruloidea* und *Sytalidium hyalinum*, die eher in den Tropen beheimatet sind. *Aspergillus*, *Acremonium* und *Fusarium* Spezies gelten als sekundäre Erreger (22, 38).

**Tabelle 1: Daten aus dem Achilles-Projekt zur Prävalenz der Onychomykose in Europa nach Haneke 1999 (39)**

| <b>Isolierte Pilzstämme</b> n=1569 | <b>Onychomykose in %<br/>(absolute Zahl)</b> |
|------------------------------------|--|
| <b>Dermatophyten gesamt</b>        | <b>67,6 % (1060)</b>                         |
| Trichophyton rubrum                | 53,3 % (836)                                 |
| Trichophyton mentagrophytes        | 12,9 % (202)                                 |
| Epidermophyton floccosum           | 1,2 % (19)                                   |
| <b>Hefen gesamt</b>                | <b>10,6 % (166)</b>                          |
| Candida albicans                   | 8,1 % (127)                                  |
| Candida parapsilosis               | 1,2 % (18)                                   |
| <b>Schimmelpilze gesamt</b>        | <b>10,8 % (169)</b>                          |
| Aspergillus spp.                   | 4,2 % (66)                                   |
| Scopulariopsis brevicaulis         | 2,8 % (44)                                   |
| <b>Mischinfektionen</b>            | <b>0,1 % (2)</b>                             |

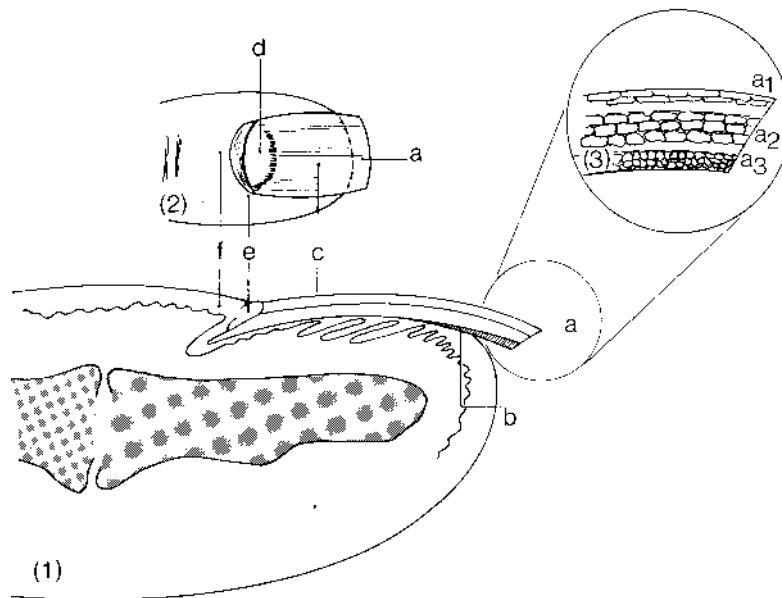
### 2.3. Klinisches Bild

Das klinische Bild der Onychomykose ist sehr vielgestaltig. In der Literatur finden sich viele Beschreibungen und Klassifikationsversuche. Die neuste Klassifikation teilt die Onychomykosen in 5 unterschiedliche Typen ein (5).

1. Distale und laterale subunguale Onychomykose (DLSO)
2. Superfizielle weiße Onychomykose (SWO)
3. Proximale subunguale Onychomykose (PSO)
4. Endonyx Onychomykose
5. Totale dystrophische Onychomykose (TDO)

## Abb. 2: Anatomie des menschlichen Nagels nach Stüttgen (61)

Bestandteile des Fingers und des Nagelorgans und ihre Bezeichnungen. (1) Längsschnitt durch das Fingerendglied und Fingernagel. (2) Fingerspitze von dorsal. (3) Schichtung der Zellen im freien Nagelanteil; a= freier Nagelrand: a1=Dorsalnagel, a2= Intermediärnagel, a3= Ventralnagel (hyponychiales Keratin); b= Hyponychium; c= Nagelplatte; d= Lunula; e=Kutikula; f= dorsaler Nagelpfalz



### 2.3.1. Distale subunguale und laterale Onychomykose (DLSO)

Die DLSO ist der in der Praxis am häufigsten zu beobachtende Befallstyp. Sie wurde zuerst von Mahon beschrieben (75). Zumeist befallen die Erreger ausgehend von einer Tinea pedum oder manum zunächst das Hyponychium und die distalen Anteile der lateralen Nagelfurchen. Von dort aus beginnt ein Vorwachsen nach proximal im Nagelepithel und Nagelbett (18, 37, 38, 61, 102, 103, 104). Durch die Bildung von weichen Keratin und Nischen der distalen Nagelplatte, kann es zur sekundären Besiedlung mit anderen Mikroorganismen kommen (103). Das subunguale Gewebe reagiert auf den Erregerbefall mit einer subakuten Dermatitis und Hyperkeratose. Die Nagelplatte erscheint verdickt und gelblich bis bräunlich verfärbt (103). Außerdem kommt es zu einem

Verlust der Nageltransparenz. Als Folge kann es mit Fortschreiten der Erkrankung zur distalen und lateralen Onycholyse kommen. Als Onycholyse wird das partielle Ablösen der Nagelplatte vom Nagelbett und distalen oder lateralen Rand in Richtung proximal bezeichnet. Die DLSO wird hauptsächlich bei *Trichophyton rubrum*- und anderen Dermatophyteninfektionen gesehen (5, 104). Aber auch Schimmelpilze und einige untypische Kandidainfektionen gehören zu diesem Typ. Diese gehen häufig mit einer Paronychie einher (5).

Aus therapeutischer Sicht ist es wichtig den Befallsgrad der Nagelplatte bei DLSO in drei Gruppen zu unterteilen.

Stadium 1: Befall von bis zu 30 % der Nagelplatte.

Stadium 2: Befall von 30-60 % der Nagelplatte

Stadium 3: Befall von mehr als 60 % der Nagelplatte

Diese Unterscheidung ist sinnvoll, weil im Stadium 1-2 eine topische Antimykotikatherapie möglich ist, im Stadium 3 aber systemisch behandelt werden soll.



**Abb. 3: Distale und laterale subunguale Onychomykose (a) und Superfizielle weiße Onychomykose (b) (18, 19)**

### **2.3.2. Superfizielle weiße Onychomykose (SWO)**

Jessner erwähnte 1952 erstmals die SWO als neuen Typ der Onychomykosen und nannte sie zunächst *Leuconychia trichophytica* (45). Hierbei wird die dorsale Nagelplatte direkt vom Erreger infiltriert. Das Eindringen beschränkt sich aber auf die oberen Nagelschichten (5, 7, 18, 102, 103, 104). Zunächst entstehen punktförmige weiße Inseln, die später konfluieren. Die erkrankten Nagelpartien erscheinen somit weiß, ältere Herde haben ein gelbliches Aussehen. Die Oberfläche wird, rau weich und krümelig, so dass sie auch als „paper-back-effect“ bezeichnet wird (56).

Als der am häufigsten isolierte Erreger gilt unbestritten *Trichophyton mentagrophytes* (7, 18, 36, 79), da ihm spezifische enzymatische und proteolytische Eigenschaften zugeschrieben werden, um direkt die dorsale Nagelschicht zu infizieren (72). Aber auch für einige Schimmelpilze wie *Acremonium* spp., *Aspergillus* spp. und *Fusarium* spp. gilt die SWO als typisches Erscheinungsbild (5, 6, 103, 104, 105). Bei AIDS Patienten konnte in den letzten Jahren *Trichophyton rubrum* bei der SWO beobachtet werden (5, 12, 15, 31, 98).

### **2.3.3. Proximale subunguale Onychomykose (PSO)**

Die PSO ist ein seltener zu beobachtender Befallstyp. Man unterscheidet PSO ohne Paronychie, mit *Candida* Paronychie und mit Schimmelpilzparonychie. Es können sowohl Finger- als auch Fußnägel befallen sein (61). Bei der PSO ohne Paronychie dringt der Pilz in die Kutikula ein. Von dort aus gelangt er über das Eponychium zur Nagelmatrix, von wo er in die Nagelplatte eindringt. Wenn die Erreger



weiter in der Nagelmatrix nach distal gelangen, können diese in der gesamten Nagelplatte nachgewiesen werden (61).

Durch die chronische Reizung kann es zu Ausbildung einer subungualen Hyperkeratose kommen, so dass der proximale Nagelwall verdickt erscheint (61). Klinisch erscheint zunächst ein kleiner weißer Fleck im Bereich der Lunula. Durch subunguale Hyperkeratose kann sich der proximale Nagelwall verdicken, so dass es zu einem Verlust der Kutikula kommt. Der Nagel verfärbt sich weiß bis gelblich und verliert seine Transparenz. Bei diesem Befallstyp spielt *Trichophyton rubrum* eine herausragende Rolle.

Bei der PSO mit *Candida* Paronychie infiltriert der Erreger, von einer Paronychie ausgehend, die Nagelplatte sekundär. Außerdem fallen gelblich – braune Streifen auf, die parallel zum lateralen Nagelwall verlaufen. Häufigster Erreger ist *Candida albicans*. (5).

Die Schimmelpilz bedingte PSO wird durch *Fusarium*, *Scopulariopsis brevicaulis* und *Aspergillus* spp. hervorgerufen. Bei *Fusarium*- und *Scopulariopsis* Nagelinfektionen erscheint die Nagelplatte weiß-gelblich bis lederfarben, wohingegen *Aspergillus* spp. schwarze oder grünliche Verfärbungen hervorrufen (5).



**Abb. 4: Proximale subunguale Onychomykose (18, 19)**

#### **2.3.4. Endonyx Onychomykose**

Hierbei wird die Nagelplatte wie bei der SWO oberflächlich infiziert. Die Erreger sind aber dazu in der Lage tief in den Nagel einzudringen, so dass es zur Aufspaltung des Keratins kommt. Typische Erreger dieses Befallstyps sind *Trichophyton soudanense* und *Trichophyton violaceum* (5, 18, 92).

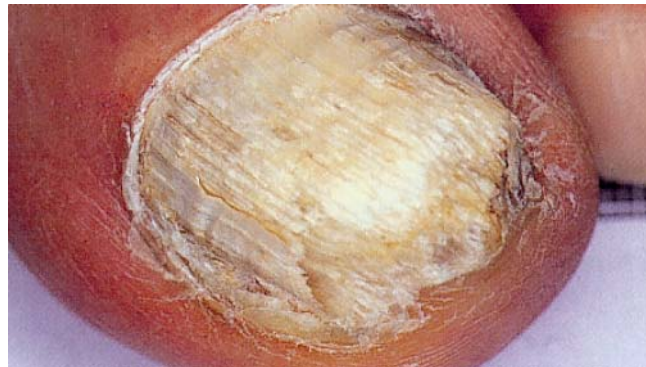
#### **2.3.5. Total dystrophische Onychomykose (TDO)**

Die TDO wird in einen primären und sekundären Typ eingeteilt. Ihnen gemeinsam ist der totale Befall des Nagelapparates mit totaler Dystrophie und Onycholyse.

Der primäre Typ betrifft die chronische mukokutane Candidose, einen angeborenen Immundefekt, der einem lebenslangen Befall von Schleimhäuten, Haut und Nägeln mit *Candida albicans* hervorrufen kann (5, 18, 38, 104).

Der proximale Nagelwall ist enorm verdickt und nicht mehr abzugrenzen. Durch eine entzündliche Reaktion von Matrix und Nagelbett kann keine geordnete Nagelstruktur mehr gebildet werden (61).

Die sekundäre Form der TDO ist der Endzustand aller oben genannten Befallstypen. Auch hier ist das gesamte Nagelorgan befallen und dystrophisch (38).



**Abb. 5 Total dystrophische Onychomykose (18, 19)**

## **2.4. Differentialdiagnosen**

Viele Dermatosen können die Nägel befallen und temporäre oder dauerhafte Schäden hervorrufen, die dem klinischen Bild der Onychomykose sehr ähnlich sein können (18).

Hierbei ist vor allem die Nagelpsoriasis zu nennen, die mit Tüpfelnägeln und dem sogenannten Ölfleckphänomen einhergehen können. Als weitere Differentialdiagnosen sind Onychogrypose (bei älteren Patienten), Onychodystrophien bei arteriellen und venösen Durchblutungsstörungen, primäre Onycholyse, Nagelartefakte und Nagelektzem zu nennen (38, 59).

Psoriatische Nägel neigen dazu von Hefepilzen befallen zu werden.

## **2.5. Prädisponierende Faktoren**

Zu den prädisponierenden Faktoren gehören folgende exogene und endogene Einflüsse und das Alter der Patienten (39, 43, 44, 53, 54, 56, 61, 73, 76).

### **Exogene Faktoren**

- Stauung von Feuchtigkeit und Wärme z.B. in Schuhen
- Durchblutungsstörungen durch Dauerdruck (enges Schuhwerk)
- Traumen der Nagelplatte (direktes Trauma, Mikrotraumen z.B. beim Fußballspielen)
- Kontakt mit Chemikalien (Reinigungs- und Lösungsmittel)

### **Endogene Faktoren**

- Durchblutungsstörungen der Extremitäten (periphere arterielle Verschlusskrankheit, Mikroangiopathien, Phlebopathien, chronisches Lymphödem)
- Endokrine Erkrankungen (Diabetes mellitus, Morbus Cushing)
- Konsumierende Erkrankungen
- Immunsuppressive Therapien

Allen exogenen Faktoren gemeinsam ist, dass sie die Funktion der Nagelplatte negativ beeinflussen oder den Erregern ein besseres Wachstumsambiente bieten. Eine traumatische Schädigung der Nagelplatte wird häufig bei Sportlern beobachtet. Hier scheint die Benutzung von engem Schuhwerk entscheidend zu sein, da hierdurch die Nagelplatte durch Mikrotraumen direkt geschädigt wird und den Erregern gute Wachstumsbedingungen durch ein feuchtwarmes Milieu

verschafft werden (39, 44, 61). Einige Autoren vertreten die Auffassung, dass Onychomykosen bei häufiger Benutzung von Duschen und Schwimmbädern oder sogar durch Barfußlaufen am Strand verstärkt auftreten (32, 44). Haneke (61) hingegen ist der Ansicht, dass diese Fälle eher auf das Tragen enges von engen Schuhwerk bei Sportlern zurückzuführen ist. Alle aufgeführten endogenen Faktoren führen zu einer Herabsetzung der immunologischen Situation am Nagelorgan. Dabei sind der Diabetes mellitus und die Durchblutungsstörungen besonders hervorzuheben. Diabetiker scheinen keine nennenswerte höhere Prävalenz für Dermatophyten bedingten Onychomykosen im Vergleich zur Gesamtbevölkerung zu haben, ausgenommen Candida-Onychomykosen (70). Die mazerierten Nägel sind bei Diabetikern aber häufig Eintrittspforten für bakterielle Infektionen der unteren Extremität z.B. Erysipel (70). Tosti hingegen konnte keinen Zusammenhang mit den oben aufgeführten Faktoren und der Prävalenz feststellen (103).

Unbestritten ist, dass das Alter zu einer höheren Prävalenz von Onychomykosen führt. Während bei Kindern sehr selten Onychomykosen zu beobachten sind (10, 34), nimmt mit steigendem Alter die Prävalenz deutlich an. Hierzu ist anzumerken, dass ältere Menschen oft unter einer oder mehreren der oben genannten prädisponierenden Faktoren leiden.

## **2.6. Lebensqualität**

In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass Patienten mit Onychomykosen eine eingeschränkte Lebensqualität haben (16, 55).

Aufgrund des heute immer stärker werdenden kosmetischen Bewusstseins leiden die Patienten häufig unter den psychischen Folgen ihrer Erkrankung. Einige Patienten schränken ihre soziale Aktivitäten ein, weil sie sich in der Öffentlichkeit nicht mit ihrer Erkrankung zeigen möchten oder glauben, andere Personen anstecken zu können. Auch werden die Patienten teilweise von ihrem sozialen Umfeld direkt gemieden. Dies kann zu Angstzuständen oder auch Depressionen führen (16, 55).

Aber auch die physiologischen Folgen schränken die Lebensqualität ein. Dazu gehören z.B. Schmerzen beim Tragen von Schuhen, Schmerzen beim Schreiben auf Computern oder Schreibmaschinen und die vermehrte Zeit, die für die Nagelpflege aufgewendet werden muss. Außerdem konnte gezeigt werden, dass Onychomykosen die Lebensqualität in manchen Ländern stärker einschränkt als in anderen. So leiden in den U.S.A. und Deutschland die Patienten stärker unter den Folgen einer Onychomykose als in Italien. Hierbei müssen sozioökonomische Faktoren berücksichtigt werden (16, 55).

## **2.7. Diagnostik**

Die klinische Diagnose muss durch eine sachgerechte mykologische Untersuchung verifiziert werden, um nicht zuletzt auch die lange und recht kostspielige Therapie zu rechtfertigen. Die mykologische Diagnostik gliedert sich in drei Schritte: Materialabnahme, Direktpräparat (KOH-Präparat) und Anlegen einer Pilzkultur (18, 59).

### **2.7.1. Materialabnahme**

Die Technik der Materialabnahme ist von großer Wichtigkeit, um falsch-negative Ergebnisse zu vermeiden. Grundsätzlich sollte nach einer entsprechenden Desinfektion nur an der Grenze vom gesunden zum erkrankten Nagel feine Nagelspäne entfernt werden. Große Nagelstücke führen sehr häufig zu negativen Kulturergebnissen. Eine weitere Möglichkeit der Materialabnahme ist die Zuhilfenahme einer elektrischen Fräse, mit der zum einem Nagelmaterial zur Diagnostik gewonnen werden kann, zum anderen wird die Pilzmasse verringert und der Nagel verdünnt, so dass topische Antimykotika besser in das Keratin bzw. die Nagelmatrix penetrieren können. Außerdem scheinen die Übereinstimmungen zwischen Kultur und positiven Nativpräparat bei Abnahme mittels Fräse höher zu sein (85-88%) als bei der üblichen Methode (50-75%) (61). Allerdings muss bei dieser Methode darauf geachtet werden, dass die Abrasion der Nägel in einem abgeschlossenen Behälter durchgeführt werden soll, da die Nagelspäne beim Einatmen bis in die Alveolen gelangen kann (3, 4).

### **2.7.2. Nativpräparat**

Ein kleiner teil der Nagelspäne wird auf einem Objektträger in 10-20 %iger Kalilauge gelöst und unter dem Mikroskop betrachtet. Hierbei kann nur die Aussage getroffen werden, ob Pilzfäden vorhanden sind oder nicht. Eine Bestimmung der Pilzart ist nicht möglich.

### **2.7.3 Pilzkultur**

Der Rest der Nagelspäne wird auf einen Nährboden (z.B. Kimmig-Agar, Sabouraud-Glucose-Agar oder einen Selektivagar) aufgebracht. Die Ablesung erfolgt einmal wöchentlich. Falls nach 4 Wochen kein Pilzwachstum zu sehen ist, gilt die Kultur als negativ. Im Gegensatz zu Dermatophyten wachsen die Hefepilze allerdings viel schneller, innerhalb von 2-3 Tagen. Die Differenzierung der Dermatophyten gelingt meistens aufgrund ihrer makro- und mikromorphologischen Merkmale. Zur Differenzierung der Hefen ist eine Subkultur auf Reisagar anzulegen, um Chlamydosporen, die typischerweise bei *Candida albicans* nachzuweisen sind, mikroskopisch zu bestimmen. Bei negativem Chlamydosporennachweis müssen die Hefen mittels Stickstoff- und Zuckerassimilation bzw. Fermentation weiterdifferenziert werden.



## **2.8. Therapie**

Onychomykosen galten bis zur Einführung von Griseofulvin 1959 als ein schwer zu behandelndes oder sogar als unheilbares Krankheitsbild. Heutzutage stehen wirksame topische und systemische Antimykotika zu Verfügung, die eine gute Heilungsrate versprechen.

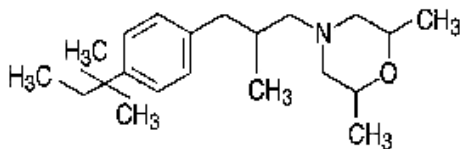
### **2.8.1. Atraumatische Nagelentfernung**

Die chirurgische Nagelextraktion, die früher häufig als einzige Therapiemöglichkeit angesehen wurde, ist seit der Einführung moderner Antimykotika obsolet und sollte nicht mehr angewendet werden (38). Die alleinige chirurgische Nagelextraktion führt nicht zur Heilung und kann Nagelbett und Nagelmatrix irreversibel schädigen. Andererseits kann die atraumatische Nagelentfernung mittels elektrischer Fräse, 40 %iger Harnstoffsalben bzw. 50 %iges Kaliumjodid vor allem die topische Antimykotikatherapie positiv beeinflussen (87). Die Vorteile werden in der Reduzierung von Pilzmasse und bessere Penetration von topischen Antimykotika gesehen. Außerdem kann die Materialabnahme mit einer elektrischen Fräse die Nachweisrate erhöhen. Die atraumatische Nagelentfernung darf aber nicht als alleinige Therapie angewendet werden, sondern sollte als Unterstützung einer topischen oder systemischen Therapie eingesetzt werden.

### 2.8.2. Topische Therapie

Zur topischen antimykotischen Therapie stehen heute Amorolfin, Ciclopirox als Nagellacke und Bifonazol-Harnstoffsalben zur Verfügung. Alle topischen Antimykotika sollten alleine nur bei der DLSO im Stadium 1-2 und der SWO eingesetzt werden, da hier von guten Heilungschancen auszugehen ist. Die DLSO im Stadium 3, die PSO, die TDO und die Endonyx-Onychomykose hingegen sollten das Einsatzgebiet systemischer Antimykotika sein.

#### 2.8.2.1. Amorolfin



**Abb. 6:** (4-[3-[p(1,1-dimethylpropyl)phenyl]-2-methylpropyl]-2,6-cis-dimethylmorpholin hydrochlorid)

Amorolfin (Loceryl®) ist ein Morpholinderivat, das eine hohe Aktivität gegen menschen-, tier- und pflanzen-pathogene Pilze hat. Die Wirkung von Amorolfin ist fungistatisch und fungizid durch Hemmung der 14-Reduktase und 7,8-Isomerase (18, 38, 66). Amorolfin wird als 5%ige Nagellackzubereitung nur topisch appliziert. Die lokale Verträglichkeit ist gut und es scheint eine nur sehr geringe systemische Toxizität zu haben (38).

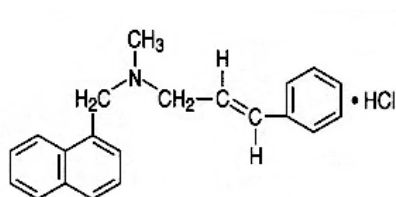
**Tabelle 2: In vitro Aktivität von Amorolfin (14, 38, 66, 106)**

| Spezies                     | MHK in µg/ml |
|-----------------------------|--------------|
| <b>Dermatophyten</b>        |              |
| Trichophyton rubrum         | <0,001- 0,13 |
| Trichophyton mentagrophytes | 0,001- 0,13  |
| <b>Hefen</b>                |              |
| Candida albicans            | 0,001-100    |
| <b>Schimmelpilze</b>        |              |
| Scopulariopsis brevicaulis  | 0,1- 5       |

Nach dem ersten Auftragen auf den Nagel kommt es zum exponentiellen Ansteigen der Amorolfinkonzentration im Keratin. Bereits nach 24 Stunden übersteigt der Wirkstoffspiegel die MHK der meisten Onychomykoseerreger. Die Konzentration im Nagelmaterial liegt zwischen 1,2 bis 2,9 µg/mg (38, 65).

In mehreren klinischen Studien konnte eine gute Wirksamkeit vor allem bei der DLSO bei Grad I-II und der SWO gezeigt werden. Bei Befall der Nagelmatrix ist eine Wirksamkeit bei alleiniger topischen Applikation nicht gesichert (18, 20, 38, 52, 57, 69, 106).

#### 2.8.2.2. Ciclopirox



**Abb. 7:** (6-Cyclohexyl-1-hydroxy-4-methyl-2(1H)-pyridon)

Ciclopirox (Nagel Batrafen®) ist ein Pyridonderivat und wird als 8 %iger Nagellack auf die erkrankten Nägel aufgetragen. Es hat ein ähnliches Wirkspektrum wie Amorolfen und im allgemeinen entstehen keine lokalen Nebenwirkungen (18, 20, 21, 38, 62). Die fungizide Wirkung beruht auf einer Störung des transmembranären Aminosäure- und Ionentransportes (38).

Ciclopirox 8% wird ein bis zweimal pro Woche auf die erkrankten Nägel aufgetragen. Hierbei kommt es zu einer Wirkstoffkonzentration im Nagel von etwa 3,35 µg/mg. Dies konnte anhand eines Tiermodells nachgewiesen werden (9, 38).

**Tabelle 3: In vitro Aktivität von Ciclopirox (11, 29, 38, 50)**

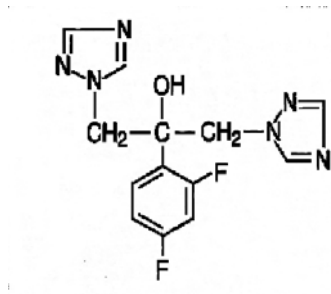
| Spezies                     | MHK in µg/ml |
|-----------------------------|--------------|
| <b>Dermatophyten</b>        |              |
| Trichophyton rubrum         | 1-10         |
| Trichophyton mentagrophytes | 1-10         |
| <b>Hefen</b>                |              |
| Candida albicans            | 1-20         |
| <b>Schimmelpilze</b>        |              |
| Scopulariopsis brevicaulis  | 5-20         |

In klinischen Studien konnte eine Heilungsrate der DLSO Stadium I und der SWO bis zu 100 % nach 6 Monaten festgestellt werden. Auch bei der DLSO im Stadium II kann eine alleinige topische Therapie mit Ciclopirox zu einer Heilung führen. Im Stadium III, bei der PSO, der TDO und der Endonyx Onychomykose ist die Heilungsrate eher schlecht (20, 21, 38, 62).

### 2.8.3. Systemische Therapie

Mit der Einführung von Griseofulvin im Jahre 1959 stand das erste systemisch wirksame Antimykotikum zur Onychomykosebehandlung zur Verfügung. Heutzutage wird die Wirksamkeit von Griseofulvin aber von modernen Antimykotika weit übertroffen. Zu den modernen systemisch wirkenden Antimykotika gehören Fluconazol, Itraconazol und Terbinafin.

#### 2.8.3.1. Fluconazol



**Abb. 8:** (2-(2,4-Difluorphenyl)-1,3-bis-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)-2-propanol)

Fluconazol (Diflucander<sup>®</sup>) gehört zu den Triazolantimykotika. Der Wirkmechanismus beruht auf einer Hemmung der C-14-Demethylase, die den Syntheseschritt von Lanosterol zum Ergosterol durchführt. Dieses Enzym ist stark vom Cytochrom-P-450 abhängig, das von den Azol-Antimykotika beeinflusst wird. Hierbei wird das Cytochrom-P-450 der Säugetierzelle kaum beeinflusst.

**Tabelle 4: Pharmakokinetik von Fluconazol (1, 25, 59)**

|                                  |   |
|----------------------------------|---|
| <b>Bioverfügbarkeit</b>          | 94-97 % bei oralen Dosis von 50 mg                                      |
| <b>Plasmaspiegel</b>             | 0,45-1,36 µg/ml (bei 150 mg pro Woche)                                  |
| <b>Plasmaproteinbindung</b>      | 12 %  |
| <b>Wirkstoffspiegel im Nagel</b> | 3,09 – 8,54 µg/g (bei 150 mg pro Woche nach 1 Monat bzw. 6 Monaten)     |
| <b>Elimination</b>               | Zu 80 % renale Elimination<br>Plasmaeliminationshalbwertszeit: ca. 30 h |

Meistens wird einmal wöchentlich einmal 150 mg Fluconazol gegeben. Nach Absetzen der Therapie konnte auch nach 6 Monaten ein Wirkstoffspiegel im Nagel von 1,4 µg/g beobachtet werden.

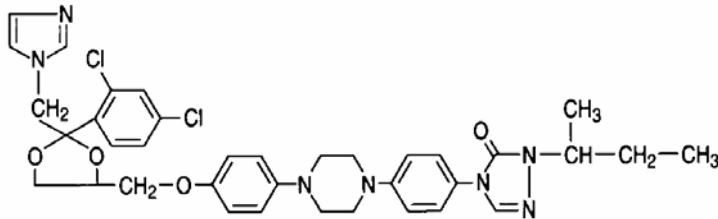
Aufgrund von Problemen bei der Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration bei Azol-Antimykotika scheint die in vitro Aktivität von Fluconazol gering zu sein. In vivo zeigte sich eine wesentlich bessere Aktivität, die nicht mit den in vitro gewonnen Daten korreliert.

**Tabelle 5: In vitro Aktivität von Fluconazol (50, 100, 101)**

| <b>Spezies</b>              | <b>MHK in µg/ml</b> |
|-----------------------------|---------------------|
| <b>Dermatophyten</b>        |                     |
| Trichophyton rubrum         | 0,78-1024           |
| Trichophyton mentagrophytes | 0,78-1024           |
| <b>Hefen</b>                |                     |
| Candida albicans            | 0,05-256            |
| <b>Schimmelpilze</b>        |                     |
| Scopulariopsis brevicaulis  | Keine Wirksamkeit   |

Klinisch zeigten sich eine Heilungsrate in mehreren Studien von 77-89 % (18, 59, 79).

### 2.8.3.2. Itraconazol



**Abb. 9:** (+-)-cis-4-[4-[4-[4-[[2-(2,4-dichlorophenyl)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy]phenyl]-1-piperazinyl]phenyl]-2,4-dihydro-2-(1-methylpropyl)-3H-1,2,4-triazol-3-one

Auch Itraconazol (z.B. Sempera®) gehört zu den Triazolantimykotika. Wie Fluconazol wirkt es über die Hemmung der C-14-Demethylase.

**Tabelle 6: Pharmakokinetik von Itraconazol (40)**

|                                  |  |
|----------------------------------|--|
| <b>Bioverfügbarkeit</b>          | 40-55%   |
| <b>Plasmaspiegel</b>             | Nach 3-4 h: 0,4 µg/ml nach 100 mg/d<br>1,1 µg/ml nach 200mg/d<br>2,0 µg/ml nach 2x200 mg/d |
| <b>Plasmaproteinbindung</b>      | 99,8 %   |
| <b>Wirkstoffspiegel im Nagel</b> | Bis 197 ng/g im Fußnagel   |
| <b>Elimination</b>               | Lebermetabolisation<br>Plasmahalbwertszeit 24-40 h   |

Hohe Wirkstoffspiegel von Itraconazol konnten auch nach 6 Monaten noch im Nagel festgestellt werden (40).

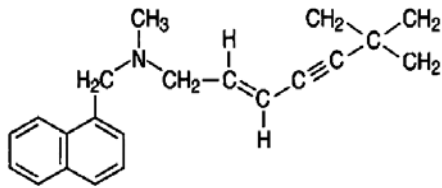
**Tabelle 7: In vitro Aktivität von Itraconazol (2, 40, 50)**

| Spezies                     | MHK in µg/ml      |
|-----------------------------|-------------------|
| <b>Dermatophyten</b>        |                   |
| Trichophyton rubrum         | <0,025-2          |
| Trichophyton mentagrophytes | <0,025-0,5        |
| <b>Hefen</b>                |                   |
| Candida albicans            | <0,025-25         |
| <b>Schimmelpilze</b>        |                   |
| Scopulariopsis brevicaulis  | Keine Wirksamkeit |

Itraconazol wird zur Onychomykose-therapie im allgemeinen entweder als kontinuierliche Therapie oder als Intervalltherapie durchgeführt. Bei der kontinuierlichen Therapie wird für etwa 3 Monate 200 mg täglich eingenommen. Hingegen wird bei der Intervalltherapie 2x200 mg Itraconazol täglich für eine Woche eingenommen. Nach einer dreiwöchigen Pause wird dieser Zyklus mindestens dreimal wiederholt. Mit diesen oben beschriebenen Therapieschemata konnten gute Heilungsraten bzw. klinische Besserung bis zu 90 % in mehreren Studien erzielt werden (18, 20, 38, 74)



### 2.8.3.3. Terbinafin



**Abb. 10:** (E)-N-(6,6-Dimethyl-2-hepten-4-ynyl)-N-methy-1-naphtylmethan-amin-hydrochlorid

Terbinafin ist ein Antimykotikum aus der Gruppe der Allylamine. Die Wirkung beruht auf der Hemmung der Squalenepoxidase und behindert somit die Ergosterol-Biosynthese. Außerdem kommt es zur Akkumulation von Squalen in der Pilzzelle.

Bei Dermatophyten, Schimmelpilzen und einigen Hefen wirkt Terbinafin fungizid, am ehesten durch toxische Akkumulation des Squalens.

Bei *Candida albicans* besteht eine vorwiegend fungistatische Wirkung durch Hemmung der Ergosterolsynthese. In höheren Konzentrationen kommt es aber auch zur fungiziden Wirkung (8, 18)

**Tabelle 8: Pharmakokinetik von Terbinafin (8, 25, 26, 78)**

|                                  |  |
|----------------------------------|--|
| <b>Bioverfügbarkeit</b>          | 85 %   |
| <b>Plasmaspiegel</b>             | Ca. 0,3 µg/ml  |
| <b>Plasmaproteinbindung</b>      | Größer 99 %  |
| <b>Wirkstoffspiegel im Nagel</b> | Bis ca.0,96 µg/g nach 18 Wochen                                |
| <b>Elimination</b>               | 80 % Urin, 20 % Fäzes<br>Eliminationshalbwertszeit: 17 Stunden |

Wie bei den Azolen konnte auch Terbinafin nach 36 Wochen nach Therapieende im Nagel nachgewiesen werden.

**Tabelle 9: In vitro Aktivität von Terbinafin (8, 11, 50)**

| <b>Spezies</b>              | <b>MHK in µg/ml</b> |
|-----------------------------|---------------------|
| <b>Dermatophyten</b>        |                     |
| Trichophyton rubrum         | 0,001-0,05          |
| Trichophyton mentagrophytes | 0,001-0,01          |
| <b>Hefen</b>                |                     |
| Candida albicans            | 0,098-0,78          |
| <b>Schimmelpilze</b>        |                     |
| Scopulariopsis brevicaulis  | 0,2-8,8             |

Terbinafin wird derzeit einmal täglich (250 mg) für 12 Wochen verabreicht, bei Fingernagelmykosen kann sich sogar ein Heilungserfolg nach 6 Wochen einstellen. In klinischen Studien wie z.B. der Lagos-Studie und der LION-Studie zeigten sich Heilungsraten bis 82 % (8, 18, 20, 24, 90).

### **3. Material und Methode**

#### **3.1. Patientenkollektiv**

Das untersuchte Patientenkollektiv wurde sowohl aus stationären als auch ambulanten Patienten der Universitäts-Hautklinik Marburg rekrutiert. Dabei stellten die stationären Patienten die Mehrheit dar.

In die Studie aufgenommen wurden diejenigen Patienten, bei denen klinisch der Verdacht einer Onychomykose gestellt wurde. Zusätzlich mussten die Patienten eine starke subunguale Hyperkeratose aufweisen, damit bei der Nagelabrasion genug Untersuchungsmaterial gewonnen werden konnte. Im Falle einer vorherigen topischen antimykotischen Therapie, wurde diese 4 Wochen vor der Nagelabrasion abgesetzt. Im Falle einer vorigen systemischen Therapie musste diese mindestens 1 Jahr zurückliegen.

Bei 52 Patienten wurde eine Nagelabrasion der betroffenen Nägel durchgeführt, und das gewonnene Untersuchungsmaterial in sterilen Petrischalen für 20 Wochen bei Raumtemperatur aufbewahrt. Drei Patienten mussten vor Ablauf der 20 wöchigen Untersuchungszeit aus der Studie genommen werden, weil zu wenig Nagelspäne für die mykologischen Untersuchungen bei der Nagelabrasion gewonnen wurde.

### **3.2. Befunderhebung und Patientenrekrutierung**

Patienten mit typischen klinischen Symptome der Onychomykose (Verfärbungen, subunguale Hyperkeratose, Onychodystrophie, Onycholysis) wurden gefragt, ob sie an der Studie teilnehmen möchten. Die Patienten wurden ausführlichen über das Krankheitsbild der Onychomykose und über die Ziele der Studie aufgeklärt. Zusätzlich wurde Ihnen ein Informationsblatt (siehe Anhang) ausgehändigt, auf dem die mündliche Aufklärung noch einmal schriftlich zusammengefasst wurde.

Ein spezieller Anamnesebogen (siehe Anhang) wurde mit den Patienten durchgegangen. Auf diesem Bogen wurden folgende Daten erfasst:

Name, Alter, Beruf, Bestehensdauer der Nagelveränderung, vorangegangene Therapie, akutes oder früheres Bestehen einer Tinea pedis, Lokalisation der Nagelveränderungen, sonstige Erkrankungen, regelmäßig eingenommene Medikamente und die prädisponierende Faktoren für eine Onychomykose (periphere Angiopathien, Neuropathien, wiederholte Traumen der Nägel, Diabetes mellitus, andere Endokrinopathien und immunologische Störungen)

### **3.3. Abrasion**

#### **3.3.1. Material**

- Schumannfräse (Fa. Schumann, Düsseldorf) *Abb. 11-13*
- Schutzkasten aus Plexiglas, (Hersteller: Feinmechaniker-Werkstatt der Universität Marburg), *Abb. 13*
- verschiedene Schleifköpfe für Grob- und Feinschliff, *Abb. 11-13*
- Isopropylalkoholtupfer 70 %
- Nagelzange
- sterile Petrischale

#### **3.3.2. Abrasion der erkrankten Nägel**

Die Abrasion der befallenen Nägel wurde zum einem zur Gewinnung infizierten Nagelmaterials und zum anderen zur Sanierung des erkrankten Nagels durchgeführt. Viele Patienten gaben an, dass die Verdickung der Nagelplatte durch die subunguale Hyperkeratose und die Verfärbungen kosmetisch störend sind. Vor allem alte und gebrechliche Patienten klagten über Probleme bei der Nagelpflege, weil die Nägel zu dick zum Schneiden sein. Einige der Patienten schmerzten die verdickten Nägel sogar.

Für eine topische Therapie der Onychomykose ist es vorteilhaft, dass die erkrankte Nagelplatte möglichst dünn gehalten wird, damit das eingesetzte Antimykotikum besser in den Nagel penetrieren kann. Ferner wird die „Pilzmasse“ im Nagel dadurch eliminiert bzw. reduziert.

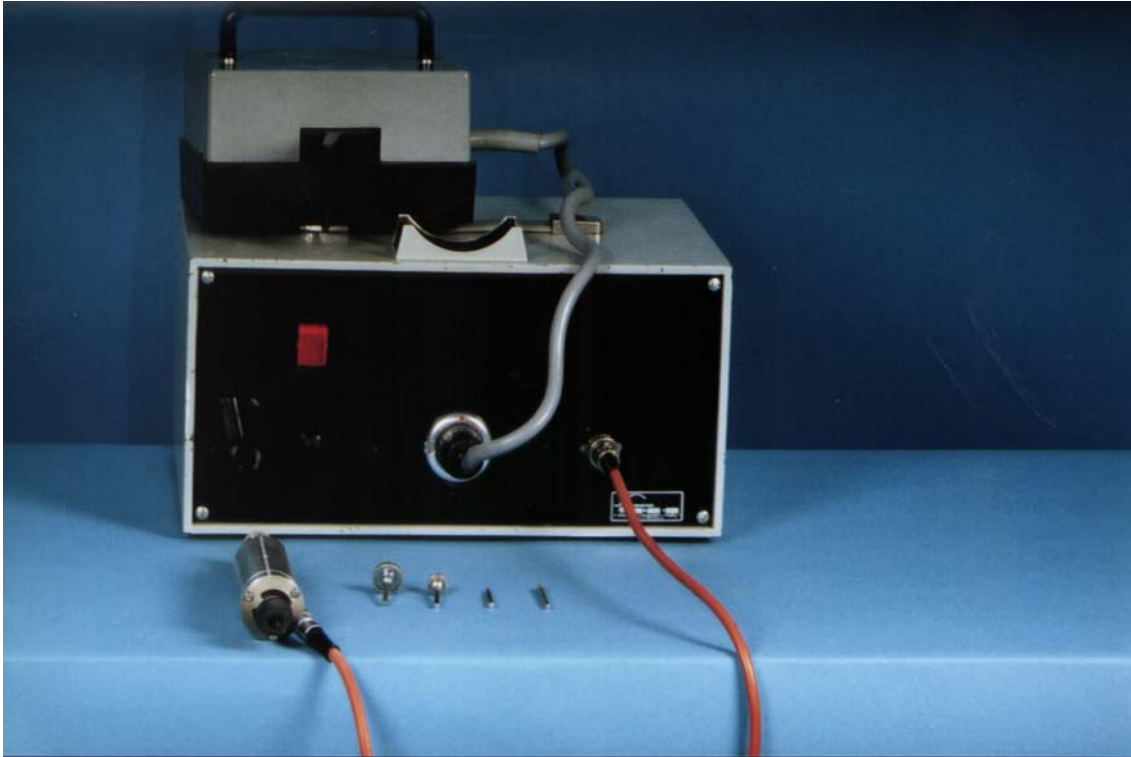
Zunächst wurde der Vorfuß bzw. Hände und die erkrankten Nägel mit einem Isopropylalkoholtupfer 70% desinfiziert. Bei der Desinfektion wurde kein handelsübliches Hautdesinfektionsmittel verwandt, da diese auch fungizid wirken. Dadurch würden bei der mykologischen Diagnostik falsch negative Ergebnisse erzeugt.

Die Abrasion wurde in halbsitzender Lage durchgeführt. Der Patient steckte seinen Fuß in den Plexiglas-Schutzkasten und legte seine Ferse auf dem Boden des Kastens ab.

Zunächst wurden onycholytische Nagelanteile mit einer Nagelzange entfernt. Dann wurde mit der Abrasion der Nagelplatte begonnen. Mit den verschiedenen Fräsköpfen wurden die Nägel schmerzlos soweit verdünnt, bis ein kosmetisch gutes Ergebnis erreicht wurde oder bis der Patient die Hitze, die durch die Reibungskräfte der Fräse entstehen, spürte. Grundsätzlich wurde zunächst ein Grobschliff und dann ein Feinschliff mit den verschiedenen Fräsköpfen durchgeführt. Bei der Abrasion musste streng darauf geachtet werden, dass der Nagelwall und das Nagelbett nicht verletzt werden.

Die gewonnene Nagelspäne wurde in eine sterile Petrischale überführt. Ein Teil der Späne wurde dann zur mykologischen Routinediagnostik gebraucht, der Rest für die Studie eingesetzt.

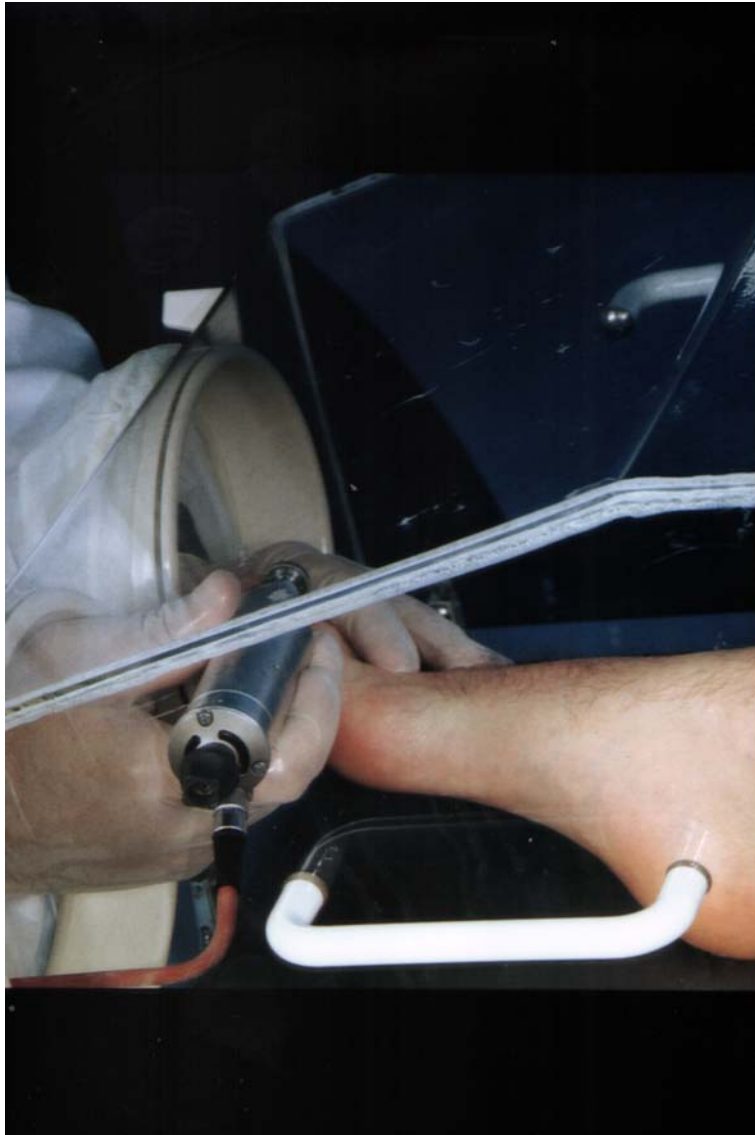
Nach erfolgter Abrasion der Nägel wurde der gesamte Vorfuß von der Nagelspäne gereinigt und mit einem handelsüblichen Hautdesinfektionsmittel desinfiziert. Danach wurde der Patient aus der Studie entlassen. Die Schumannfräse und der Plexiglastisch wurden mit einem handelsüblichen Flächendesinfektionsmittel gereinigt, die Fräsköpfe sterilisiert.



**Abb. 11: Schumannfräse (Firma Schumann, Düsseldorf)**



**Abb. 12: Verschiedene Fräsköpfe für Grob- und Feinschliff der Schumannfräse**



**Abb. 13: Nagelabrasion: Wegfräsen der verdickten Nagelplatte in einem partikeldichten Plexiglaskasten**



### **3.4. Nativpräparat und Pilzkultur**

#### **3.4.1. Material**

- Selektivagar für pathogene Pilze (Fa. Merck, Darmstadt)
- Pilz-Agar nach Kimmig modifiziert (Fa. Merck, Darmstadt)
- Reisextrakt-Agar (Fa. Merck, Darmstadt)
- Sterile Plastikeinmalösen (Fa. Greiner Labortechnik)
- Objektträger
- Deckplättchen
- Kalilauge
- Methylenblau 4 % (Fa. Tronsdorff GmbH & Co., Alsdorf)
- Feuchte Kammer

#### **3.4.2. Anlegen und Bewertung der Nativpräparate**

Ein wenig Schuppen der gewonnenen Nagelspäne wurden mit einer sterilen Plastikeinmalöse auf einen Objektträger überführt und mit 15 % Kalilauge versetzt, damit die Schuppen beim Mikroskopieren transparent erscheinen. Nach Aufbringen eines Deckplättchens wurde der ganze Objektträger kurz über einer Flamme erhitzt und dann in eine feuchte Kammer gegeben, um das Präparat vor Austrocknung zu schützen.

Nach frühestens 20 Minuten konnte das Präparat unter einem Mikroskop bei 20 facher Vergrößerung (bei Bedarf mit 40 facher Vergrößerung) betrachtet werden. Bei Vorliegen nur eines Pilzfadens wurde das Nativpräparat als positiv, ansonsten als negativ gewertet.



**Abb. 14: Positives Nativpräparat : Mikroskopischer Nachweis der Pilzelemente (Pfeile)**

### **3.4.3. Anlegen der Pilz-Kulturen**

Aus den gewonnen Schuppen wurde sofort nach der Gewinnung eine Kultur sowohl auf Selektivagar für pathogene Pilze, als auch auf Kimmig-Agar angelegt. Dazu wurde ein Teil der Schuppen mit einer sterilen Plastikeinmalöse auf die beiden oben genannten Nährböden verteilt. Die Kultur wurde dann bei Zimmertemperatur 5 Wochen inkubiert.

Der Rest der Nagelspäne wurde für weitere Untersuchungen in einer sterilen Petrischale 20 Wochen bei Zimmertemperatur aufgehoben. Nach 4, 8, 12, 16 und 20 Wochen wurden weitere Kulturen (wie oben beschrieben) angelegt. Der nach Woche 20 noch verbliebene Rest der Nagelspäne wurde auf mehrere Selektivagar für pathogene Pilze verteilt.

Die Kulturen wurden jede Woche makroskopisch abgelesen. Wenn nach 5 Wochen kein Pilzwachstum festzustellen war, galt die Kultur als negativ und wurde verworfen. Bei Pilzwachstum wurde die praxisorientierte Einteilung humanpathogener Pilze in Dermatophyten (D), Hefen (H) und Schimmel (S) zugrundegelegt. Bei der Differenzierung zwischen Dermatophyten, Hefen und Schimmeln wurde folgende Kriterien angewandt:

- makroskopische Charakteristika (Oberflächenstruktur- und -gestalt, Farbe)
- Pigmentierung der Kulturrückseite
- Wachstumsgeschwindigkeit
- Geruch

## **Dermatophyten**

Oberfläche:

Luftmycel, meist weiße Farbe, aber auch hellgelbe, hellbeige und hellrosa Varianten kommen vor

Kulturrückseite:

Kräftiges gelb, orange, dunkelbraun, dunkelrot

Wachstumsgeschwindigkeit:

Erst ca. nach 7- 10 Tagen sind erste Kolonien auf der Platte zu erkennen.



**Abb. 15: Kultur von *Trichophyton rubrum* auf Kimmig Agar (4 Wochen alt)**



**Abb. 16: *Trichophyton mentagrophytes* (4 Wochen alt)**

## Hefepilze

Oberfläche:

Matt bis mattglänzend (teilweise mit Pseudomycel), cremeweiße bis hellbeige Farbe

Wachstumszeit:

2-4 Tage bei Zimmertemperatur, 6-24 Stunden bei 37 ° C



**Abb. 17: Chlamydosporen (Pfeile) bei *Candida albicans***

## Schimmelpilze

Oberfläche:

Luftmycel; gelbe, blaue, grüne, braune, schwarze oder weiße  
Oberflächenfarbe möglich

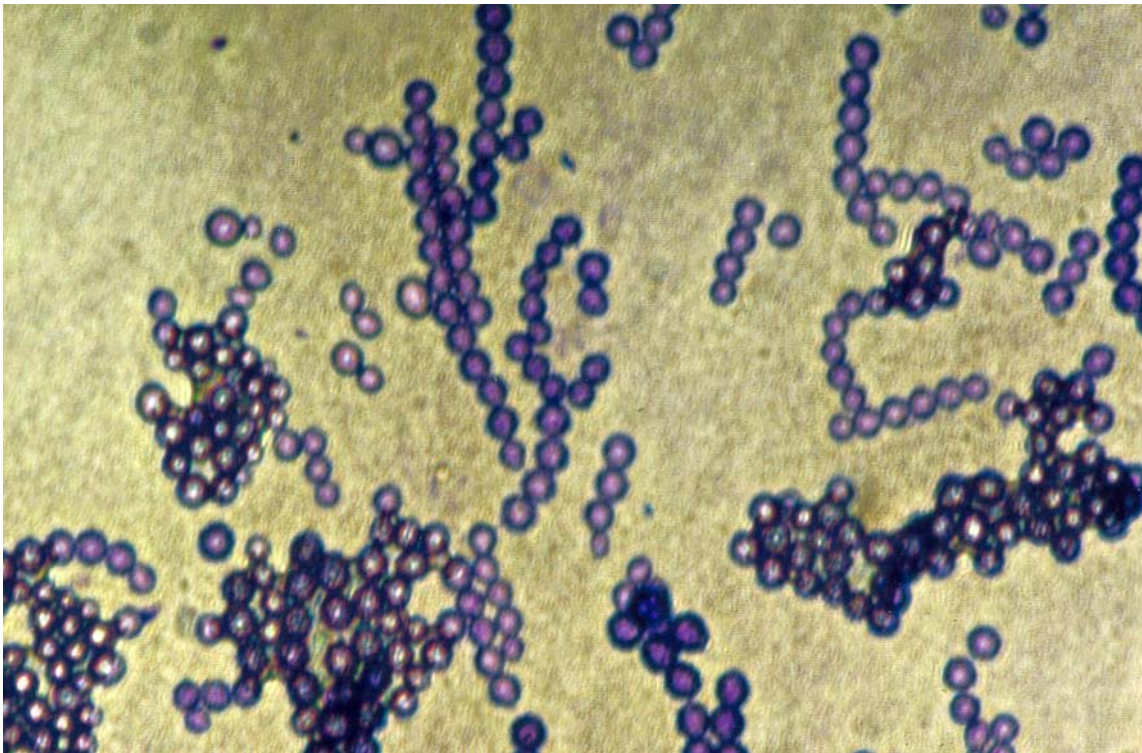


Kulturrückseite:

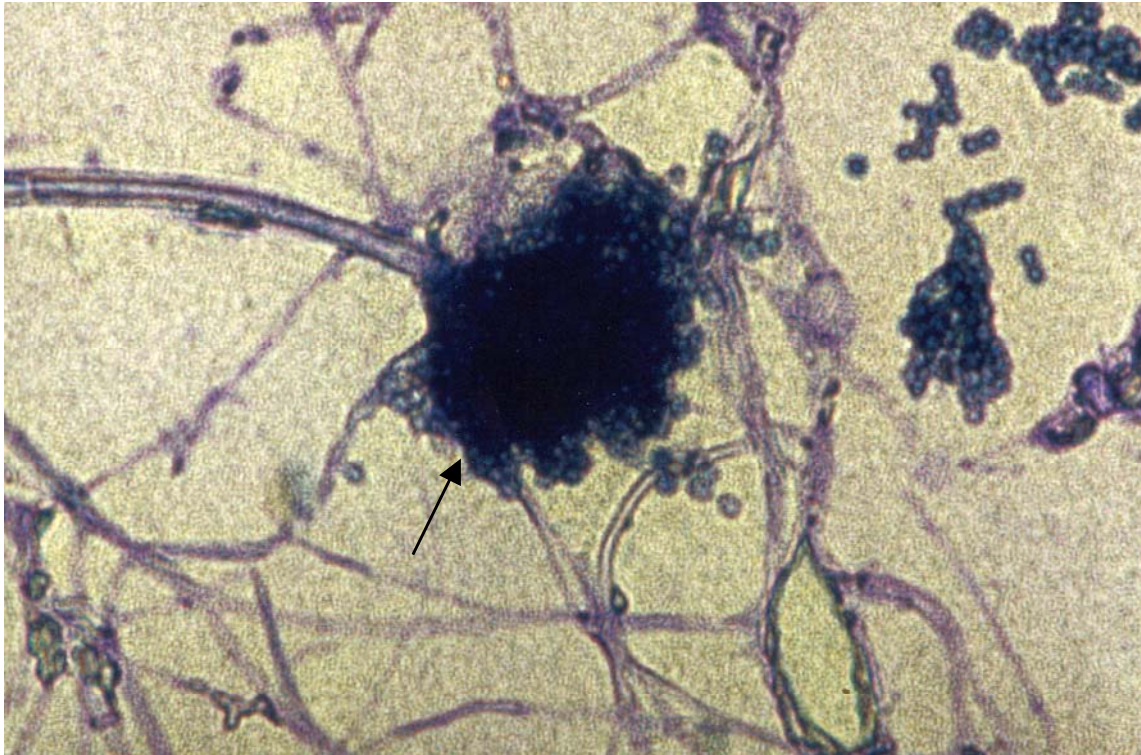
Die Kulturrückseite ist meist schwächer pigmentiert.

Wachstumsgeschwindigkeit:

Relativ schnelles Wachstum (nach 2-7 Tagen kann die gesamte Platte zugewachsen sein)



**Abb. 18: Mikrokonidien des Schimmelpilzes *Scopulariopsis brevicaulis***



**Abb. 19: *Aspergillus fumigatus* mit „Aspergillus-Kopf“ (Pfeil) im Methylenblaupräparat**

Bei den Dermatophyten reichten die makroskopischen Charakteristika häufig aus, um die Gattung des Dermatophyten zu bestimmen. Bei Unklarheiten wurde eine Sekundärkultur auf Sabouraud-Glucose-Agar angelegt. Gegebenenfalls wurde ein Tesafilmabklatsch-Präparat mit Methylenblau angefertigt, um die Mikrokonidien mikroskopisch zu untersuchen.

Die Differenzierung zwischen den Hefen erfolgte mittels Überimpfung auf einen Reisextrakt-Agar, der nach ca. 24 Stunden auf Chlamydosporen untersucht wurde. Bei Vorhandensein von Chlamydosporen handelte es sich bei der Hefe um *Candida albicans*, bei Abwesenheit von

Chlamydosporen wurde die Gattung der Hefe mittels API-System bestimmt.

Die Schimmelpilze wurden anhand ihrer makroskopischen Charakteristika, Geruch und Mikrokonidien identifiziert. Es kam bei den Schimmelpilzen primär darauf an, *Scopulariopsis brevicaulis* von anderen Schimmelpilzarten zu unterscheiden. Denn *Scopulariopsis brevicaulis* gilt als der Schimmelpilz, der bei typischen Symptomen primär eine Onychomykose verursachen kann.

### **3.5. Mikrodilutionstest**

#### **3.5.1. Material**

- 100 ml Erlenmeyerkolben (Fa. Schott Glas, Mainz)
- sterile Mikrotiterplatten mit 96 Vertiefungen, Flachboden und Deckel (F.a. Nalge Nunc International, Rochester)
- Hettich Universal Zentrifuge (F.a. Hettich AG, Bäch)
- Rüttler Sm 6 Nr. 2246 (F.a. Edmund Bühler, Tübingen)
- Eppendorf Photometer 1101 M (F.a. Eppendorf AG, Hamburg)
- Präzisionswaage Mettler Typ H 16 (F.a. Spoerkase AG, Gießen)
- Zentrifugenröhrchen 15 ml Falcon® Blue Max™ Jr. (F.a. Bacton Dickinson Labware, U.S.A.)
- Reaktionsgefäß Safe Lock 1,5 ml (F.a. Eppendorf-Nethler-Hinz-GmbH, Hamburg)
- 10 ml Spritzen Luer Braun (F.a. B. Braun Melsungen AG, Melsungen)
- Handhomogenisator (F.a. B. Braun Melsungen AG, Melsungen)
- Mikrotiterplatten- read -System



### 3.5.2. Chemikalien und Reagenzien

- Nährbouillon - Nutrient Broth (F.a. Difco Laboratories GmbH, Augsburg)
- Amorolfen-Hydrochlorid (F.a. Galderma Laboratorium GmbH, Freiburg)
- Ciclopiroxolamin (F.a. Aventis Pharma Deutschland GmbH, Bad Soden am Ts.)
- Fluconazol 99,1 % (F.a. Pfizer GmbH, Karlsruhe)
- Itraconazol (F.a. Janssen-Cilag GmbH, Neuss)
- Terbinafinhydrochlorid (F.a. Novartis Pharma GmbH, Nürnberg)
- N, N- Dimethylformamid pro analysis (F.a. Merck, Darmstadt)
- Dimethylsulfoxid reinst (F.a. Merck, Darmstadt)
- Methanol (F.a. J.T. Baker, Deventer)
- Aqua ad iniectionem Braun (F.a. B. Braun Melsungen A.G., Melsungen)

### 3.5.3. Vorgehen

Die Methode beruht auf der Beschreibung von Artis (30). In einer Mikrotiterplatte wurden verschiedene Antimykotika mit unterschiedlichen Konzentrationen (10 µl) mit frischem Flüssignährboden (200 µl) und ein standardisiertes Inokulum (10 µl) miteinander vermischt. Nach 6 Tagen wurde die Mikrotiterplatte abgelesen. Die kleinste Konzentration, bei der noch kein Wachstum sichtbar war, entsprach der minimalen Hemmkonzentration. Alle beschriebenen Geräte und Chemikalien waren steril.

### 3.5.4. Herstellung der mit Antimykotika bestückten Mikrotiterplatte

Es wurden folgende Antimykotika im Mikrodilutionstest eingesetzt:

- Amorolfín-Hydrochlorid (F.a. Galderma Laboratorium GmbH)
- Ciclopirox (F.a. Aventis Pharma Deutschland GmbH)
- Fluconazol (F.a. Pfizer GmbH)
- Itraconazol (F.a. Janssen-Cilag GmbH)
- Terbinafinhydrochlorid (F.a. Novartis Pharma GmbH)

Für jedes Antimykotikum wurde eine Stammlösung hergestellt und auf mehrere 1,5 ml Reaktionsgefäße verteilt. Diese wurden dann bis zu ihrem Gebrauch bei -20° C eingefroren.

- 10 mg Amorolfín-Hydrochlorid wurden 22,73 ml in Dimethylsulfoxid gelöst, was einer Konzentration von 440 µg/ml entspricht.
- 20 mg Ciclopirox wurden in 11,36 ml Methanol (20% vol/vol) gelöst, was einer Konzentration von 1760 µg/ml entspricht.
- 500 mg Fluconazol wurden in 11,10 ml Methanol gelöst, was einer Konzentration von 45056 µg/ml entspricht.
- 10 mg Itraconazol wurden in 11,36 ml Dimethylformamid gelöst, was einer Konzentration von 880 µg/ml entspricht.
- 10 mg Terbinafinhydrochlorid wurden in 9,09 ml Aqua ad injetabila (destilliertes Wasser) gelöst, was einer Konzentration von 1100 µg/ml entspricht.

Die Antimykotika wurden in 1,5 ml Reaktionsgefäßen mit Aqua ad injetabila auf die gewünschten Konzentrationen herunter verdünnt. Für die einzelnen Antimykotika wurden folgende zu testende Konzentrationen gewählt:

**Tabelle 10: Konzentrationen der getesteten Antimykotika**

|     | <b>Amorolfin<br/>(µg/ml)</b> | <b>Ciclopirox<br/>(µg/ml)</b> | <b>Fluconazol<br/>(µg/ml)</b> | <b>Itraconazol<br/>(µg/ml)</b> | <b>Terbinafin<br/>(µg/ml)</b> |
|-----|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| 1.  | <b>10</b>                    | <b>80</b>                     | <b>2048</b>                   | <b>40</b>                      | <b>50</b>                     |
| 2.  | <b>5</b>                     | <b>40</b>                     | <b>1024</b>                   | <b>20</b>                      | <b>25</b>                     |
| 3.  | <b>2</b>                     | <b>20</b>                     | <b>512</b>                    | <b>10</b>                      | <b>5</b>                      |
| 4.  | <b>1</b>                     | <b>16</b>                     | <b>256</b>                    | <b>8</b>                       | <b>2,5</b>                    |
| 5.  | <b>0,5</b>                   | <b>8</b>                      | <b>128</b>                    | <b>4</b>                       | <b>0,5</b>                    |
| 6.  | <b>0,1</b>                   | <b>4</b>                      | <b>64</b>                     | <b>3</b>                       | <b>0,1</b>                    |
| 7.  | <b>0,01</b>                  | <b>3</b>                      | <b>32</b>                     | <b>2</b>                       | <b>0,05</b>                   |
| 8.  | <b>0,001</b>                 | <b>2</b>                      | <b>16</b>                     | <b>1</b>                       | <b>0,01</b>                   |
| 9.  | <b>0,0001</b>                | <b>1</b>                      | <b>-</b>                      | <b>0,5</b>                     | <b>0,005</b>                  |
| 10. | <b>0,00001</b>               | <b>0,5</b>                    | <b>-</b>                      | <b>0,1</b>                     | <b>0,001</b>                  |
| 11. | <b>0,000001</b>              | <b>0,1</b>                    | <b>-</b>                      | <b>0,01</b>                    | <b>0,0005</b>                 |
| 12. | <b>0,0000001</b>             | <b>-</b>                      | <b>-</b>                      |                                | <b>0,0001</b>                 |

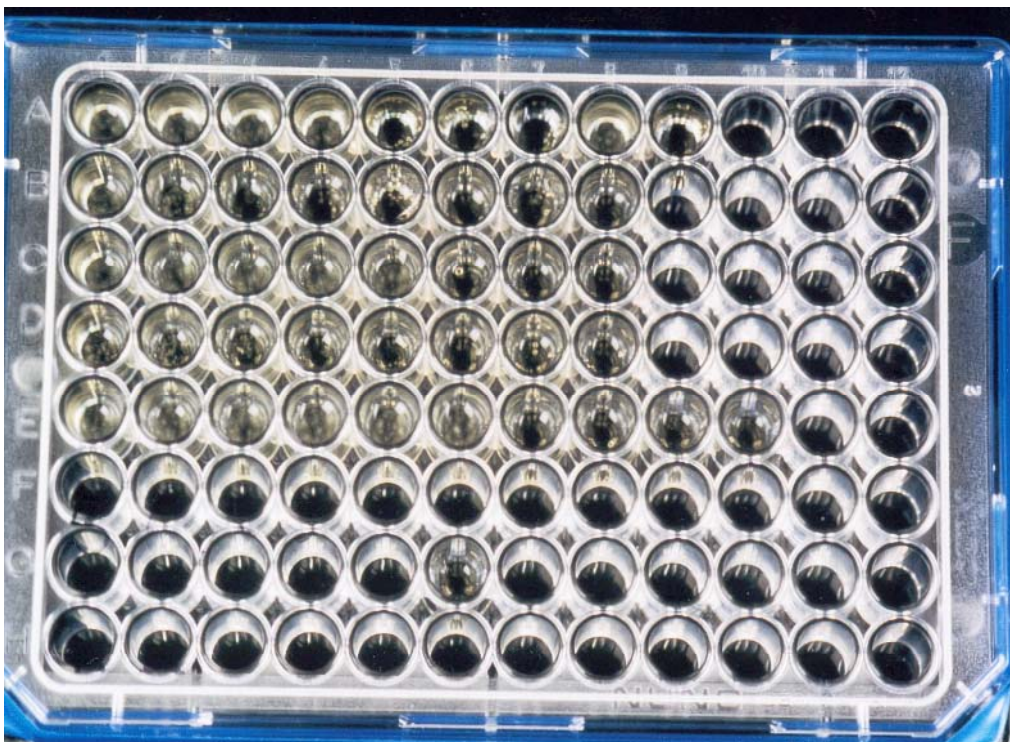
Nach der Herstellung der Verdünnungsreihen wurde von jeder Konzentration 10 µl in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte pipetiert. Die bestückten Platten wurden bis zu ihrem Gebrauch bei -20° C eingefroren.

### **3.5.5. Herstellung des standardisierten Inokulums**

Nach der Anzucht auf Selektiv- bzw. Kimmig-Agar wurde von dem jeweiligem Isolat eine Sekundärkultur auf Kimmig-Agar angefertigt. Nach deren Heranwachsen wurden 3 Stücke von dem Isolat (jeweils 1/4 Quadratzentimeter) aus dem Nährboden herausgeschnitten und in 15 ml Nutrient Broth überführt. Die Flüssigkultur wurde ca. eine Woche lang bei

Raumtemperatur inkubiert und 3 mal täglich von einem Rüttler für 5 Minuten geschüttelt. Mit einer serologischen Pipette wurden nach ca. 7 Tagen 10 ml der Flüssigkultur in ein Zentrifugenröhrchen gegeben und bei einer Drehzahl von ca. 3600 U/min für 20 Minuten zentrifugiert.

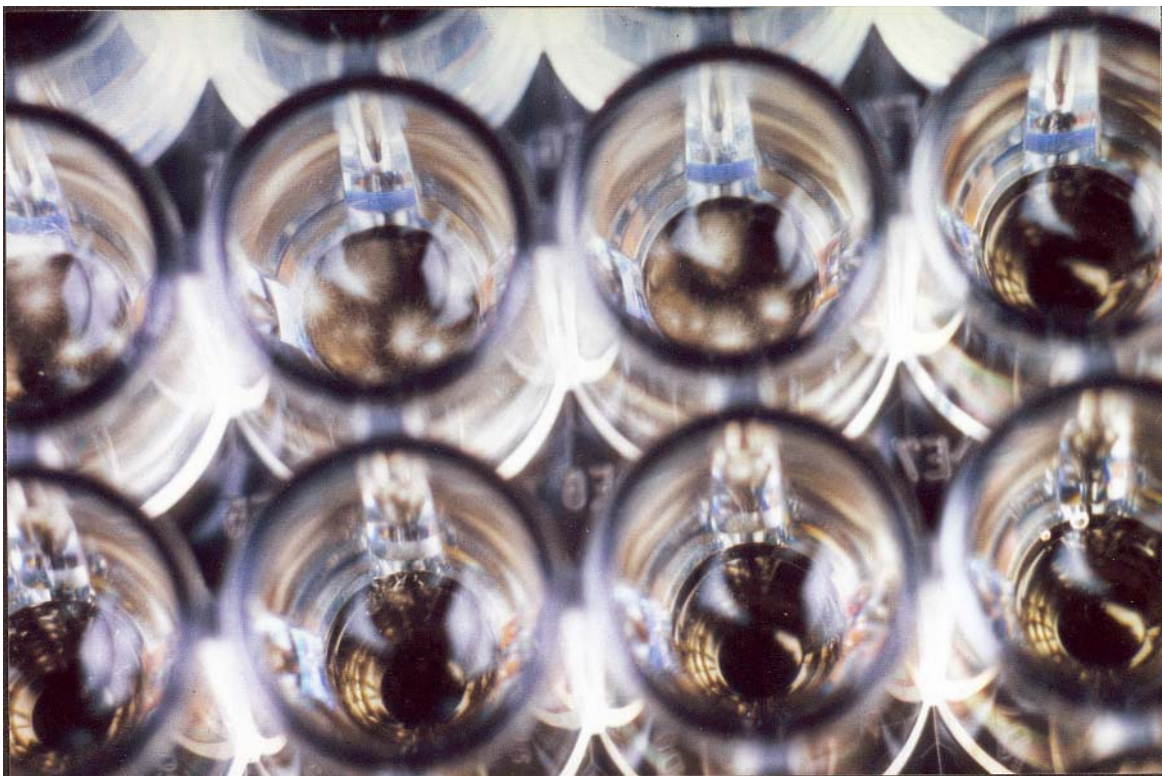
Das dabei entstandene Pellet wurde 2 mal in Aqua ad injectabilia gewaschen. Nach Resuspension in 3 ml frisches Nutrient Broth wurde das Pellet mit einem Handhomogenisator zerkleinert und mit Hilfe eines Eppendorf Fotometers auf eine optische Dichte (OD) von 0,5 bis 0,7 bei 436 nm eingestellt. Schließlich wurden 200 µl frisches Nutrient Broth und 10 µl des hergestellten Inokulums in jede Vertiefung der Mikrotiterplatte pipetiert, die ein Antimykotikum enthielt. Zusätzlich wurde eine Positiv- und eine Negativkontrolle auf der Platte mitgeführt.



**Abb. 20: Mit Nutrient Broth bestückte Mikrotiterplatte**

### 3.5.6. Optisches Ablesen der minimalen Hemmkonzentration

Nach 6 Tagen konnte die minimale Hemmkonzentration mit Hilfe eines Mikrotiterplatten-read-Systems optisch ermittelt werden. Die kleinste Konzentration, bei der kein Wachstum festzustellen war, galt als die minimale Hemmkonzentration für das jeweilige Antimykotikum.



**Abb. 21: Mikrotiterplattenvertiefungen mit Pilzwachstum (Nahaufnahme)**

## 4. Ergebnisse

Insgesamt wurden 50 Patienten mit klinischen Symptomen einer Nagelmykose in die Studie aufgenommen. Bei 22 der Patienten konnten 26 Pilzstämmen von 3 verschiedenen Arten kulturell nachgewiesen werden. Bei den anderen 28 Patienten konnte kein für eine Onychomykose typischer Erreger gefunden werden. Die folgenden statistischen Auswertungen beziehen sich nur auf diejenigen 22 Patienten, bei denen auch ein Erreger kulturell nachgewiesen werden konnte.

### 4.1. Demographische Befunde

Die Altersspanne bei den Patienten mit einer kulturell nachgewiesenen Erreger war 35-76 Jahre mit einem Mittelwert von 63,5 Jahren.

Die genaue Geschlechts- bzw. Altersverteilung wird in Tabelle 11 und Grafik 1 dargestellt.

| n=22     | 0-29 J. | 30-39 J. | 40-49 J. | 50-59 J. | 60-69 J. | 70-79 J. | >=80 J. |
|----------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|---------|
| weiblich | 0       | 1        | 0        | 2        | 2        | 4        | 0       |
| männlich | 0       | 0        | 1        | 4        | 5        | 3        | 0       |
| Gesamt   | 0       | 1        | 1        | 6        | 7        | 7        | 0       |

**Tabelle 11: Geschlechts- und Altersverteilung des Patientengutes**

## Altersverteilung

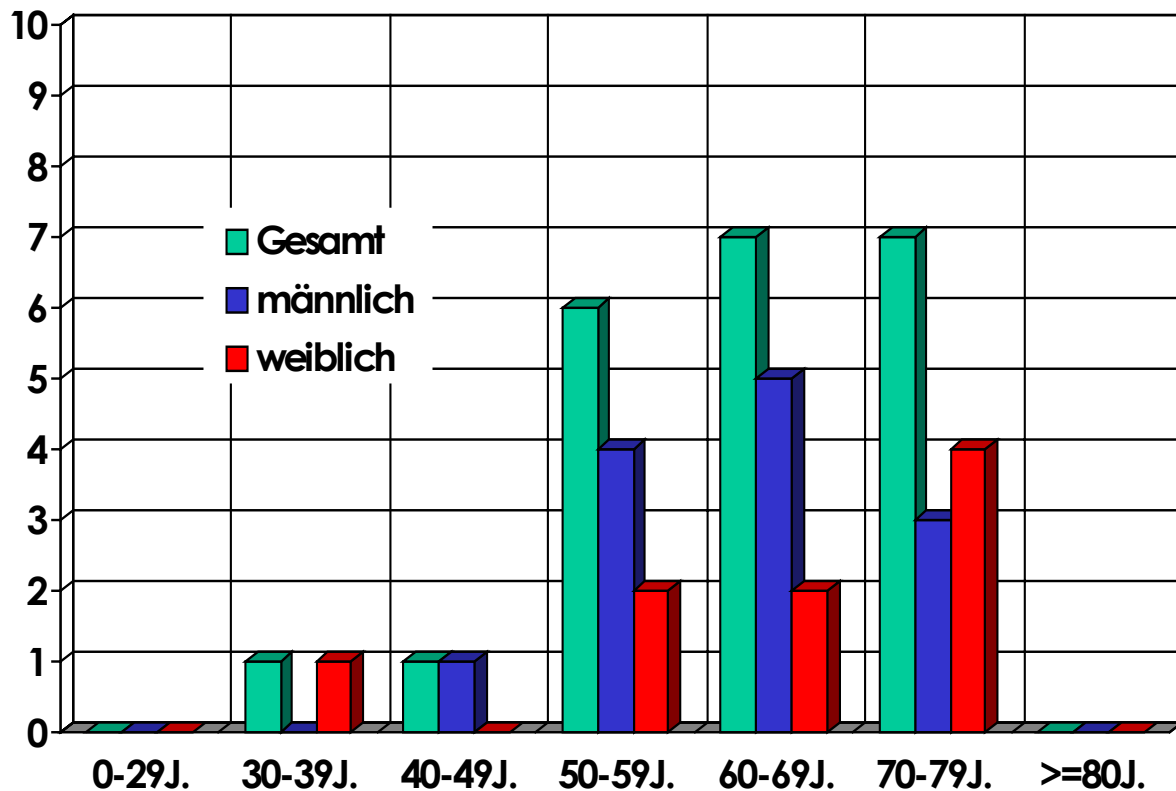


Abb. 22: Geschlechts- und Altersverteilung des Patientengutes (n=22)

### 4.1.1. Bestandsdauer der Nagelveränderungen

Die von den Patienten angegebene Bestandsdauer der Nagelveränderungen lagen zwischen 5 und 720 Monaten (Mittelwert: 105,5; Standardabweichung: 162,9). Hierbei ist zu sagen, dass es sich hier um Schätzangaben der Patienten handelt. An der hohen Standardabweichung ist eine hohe Streubreite vom Mittelwert der angegebenen Monate abzulesen.

#### 4.1.2. Häufigkeitsverteilung mykotisch veränderter Zehnägel

Insgesamt konnten bei 22 Patienten 121 mykotisch veränderte Zehnägel gefunden werden. Im Durchschnitt waren 5,5 Nägel befallen. In Tab.12 und den Abb. 23 und 24 werden die genauen Verteilungsmuster wiedergegeben.

|                 | links |     |      |     |    |  | rechts |     |      |     |    |
|-----------------|-------|-----|------|-----|----|--|--------|-----|------|-----|----|
|                 | D I   | DII | DIII | DIV | DV |  | DI     | DII | DIII | DIV | DV |
| <b>männlich</b> | 12    | 7   | 8    | 7   | 10 |  | 10     | 5   | 8    | 10  | 9  |
| <b>weiblich</b> | 8     | 2   | 2    | 3   | 2  |  | 8      | 3   | 2    | 2   | 3  |
| <b>Gesamt</b>   | 20    | 9   | 10   | 10  | 12 |  | 18     | 8   | 10   | 12  | 12 |

**Tabelle 12: Befallshäufigkeit der einzelnen Zehnägel (n=121)**



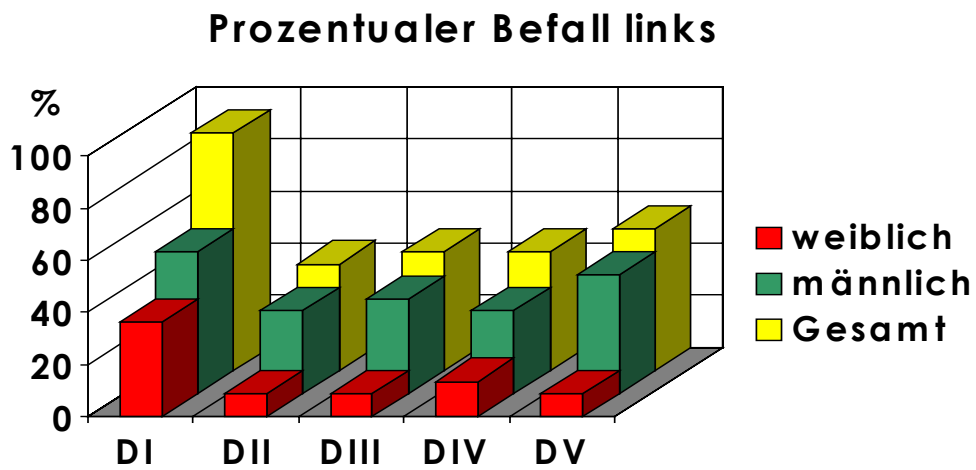


Abb. 23: Prozentualer Befall der Zehennägel links

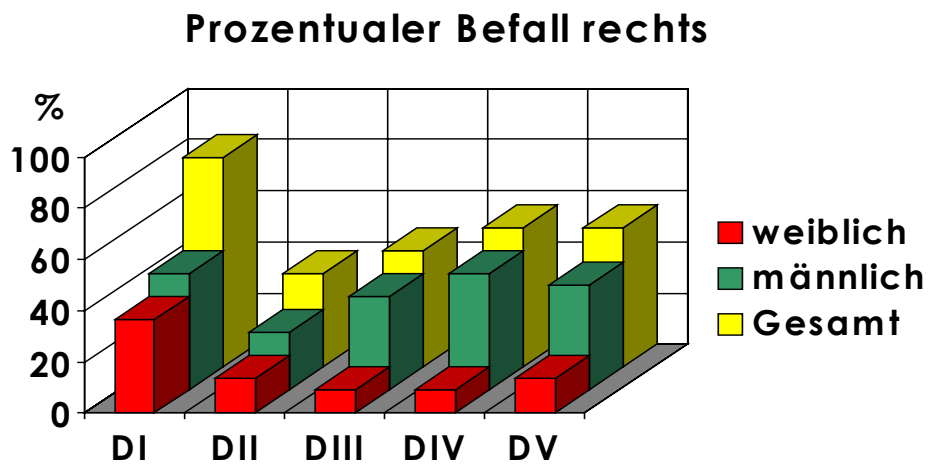


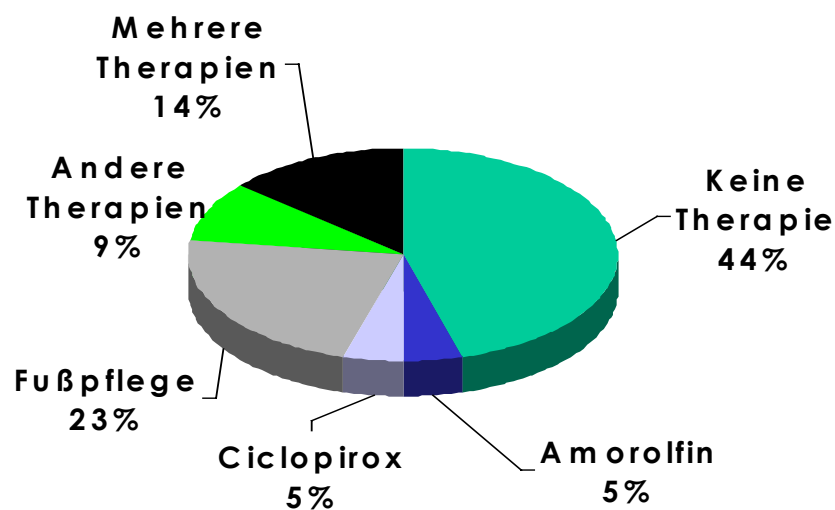
Abb. 24: Prozentualer Befall der Zehennägel rechts

Bei den männlichen Patienten waren im Durchschnitt 6,7 der Nägel pilzbefallen. Bei den Frauen hingegen zeigten nur im Durchschnitt 3,8 der Nägel einen Pilzbefall.

#### 4.1.3. Vorangegangene Therapien

In dem im Anhang beigefügten Anamnesebogen wurden die Patienten nach vorangegangenen Therapien gefragt. In diesem Patientenkollektiv fanden sich 6 unterschiedliche Therapieformen:

Keine vorangegangene Therapie, Amorolfing, Ciclopirox, Itraconazol, Terbinafin, Fußpflege und Kombinationen aus diesen.

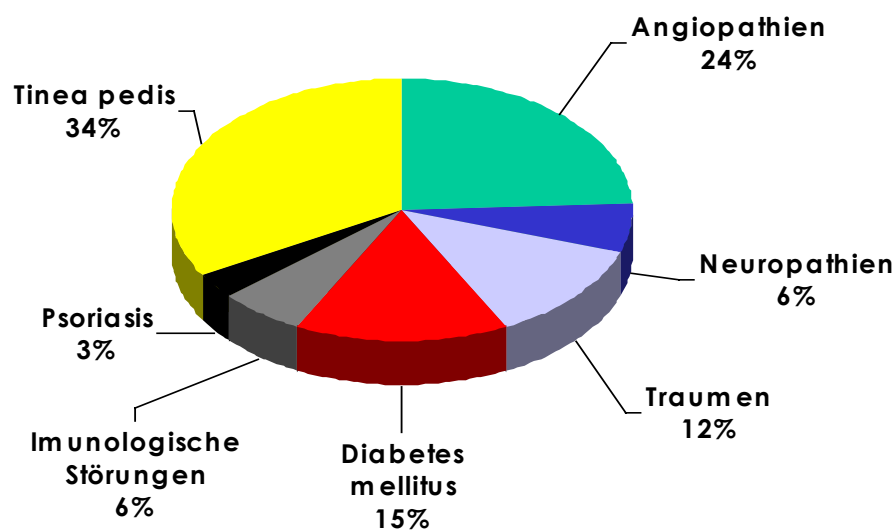


**Abb. 25: Vorangegangene Therapieformen bei den untersuchten Patienten  
(n=22)**

In die Rubrik mehrere Therapieformen fielen 3 Kombinationen (1. Itraconazol, Terbinafin und Fußpflege 2. Ciclopirox und Itraconazol 3. Amorolfing, Ciclopirox, Itraconazol und Terbinafin). 2 Patienten wählten andere Behandlungsmethoden. Diese waren zum einen ein Mycospor Nagelset und zum anderen eine selbstgemixte Tinktur, von der die Inhaltsstoffe nicht bekannt sind.

#### 4.2. Prädisponierende Faktoren

Bei den 22 Patienten fanden sich insgesamt 33 prädisponierende Faktoren für eine Onychomykose. Maximal fielen 4 gleichzeitig bestehende Faktoren auf einen Patienten. 5 Patienten wiesen keine prädisponierende Faktoren auf. Der Mittelwert liegt bei 1,5 (Standardabweichung: 1,08).

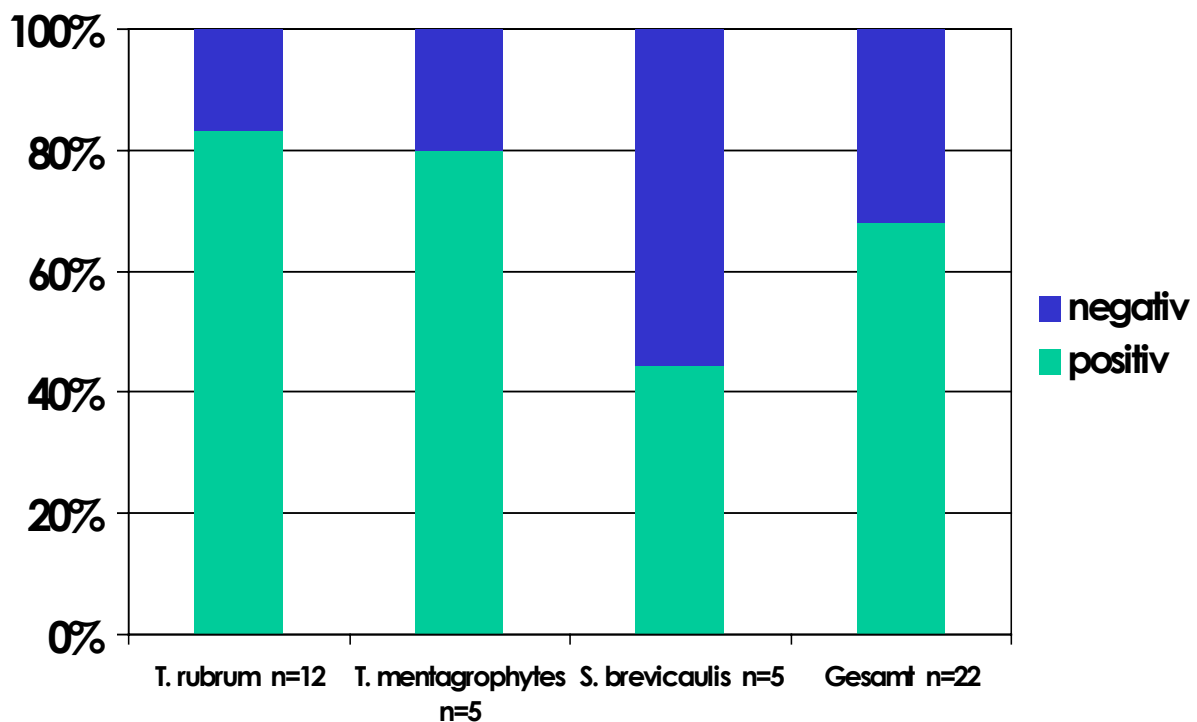


**Abb. 26: Koexistenz relevanter Begleiterkrankungen der untersuchten Patienten (n=22)**

Zu der Gruppe der Angiopathien zählten die periphere arterielle Verschlusskrankheit und die chronisch venöse Insuffizienz. In den 2 Fällen der Neuropathien der unteren Extremität bestand gleichzeitig ein Diabetes mellitus, so dass die Neuropathien am ehesten als Folge des Diabetes mellitus zu sehen ist. In die Gruppe der Traumen, die eine Onychomykose ausgelöst haben könnten, wurden nur Patienten aufgenommen, bei denen ein enger zeitlicher Zusammenhang zwischen Trauma und Onychomykoseentstehung bestand. In den beiden Fällen, bei denen eine Immunsuppression zu eruieren war, handelte es sich um jeweils eine Langzeitglukokortikoidtherapie.

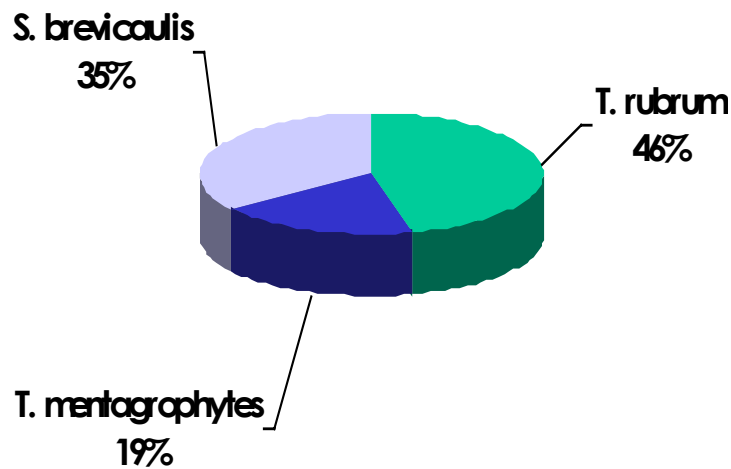
#### **4.3. Erregerspektrum**

Insgesamt konnte bei den 22 Patienten, bei denen kulturell auch ein Erreger nachgewiesen werden konnte, in 68,2 % der Fälle ein positives Nativpräparat gefunden werden. Auffällig ist jedoch, dass das Nativpräparat bei *T. rubrum* sogar 83,3 % bzw. bei *T. mentagrophytes* 80,0 % positiv war, während es bei dem Schimmelpilz *S. brevicaulis* nur zu 44,4 % der Fall war (Abb. 27).



**Abb. 27: Ausfall der Nativpräparate bei kulturell nachgewiesenen Erreger**

Insgesamt konnten 26 Pilzstämmen von 22 Patienten isoliert werden. Bei 4 Patienten konnten 2 Pilzarten gleichzeitig nachgewiesen werden. Die Pilzstämmen verteilten sich insgesamt nur auf 3 Arten, nämlich *Trichophyton rubrum* (n=12), *Trichophyton mentagrophytes* (n=5) und den Schimmelpilz *Scopulariopsis brevicaulis* (n=5). Eine Hefeart konnte nicht isoliert werden, obwohl in neueren Studien wie dem Achilles Projekt bis 10,6 % der Fälle eine Hefe (*Candida albicans* bzw. *Candida parapsilosis*) als Erreger genannt werden. Dies ist eventuell mit der Auswahl der Patienten zu erklären. Es wurden nur Patienten zur Nagelabrasion ausgewählt, die schon einen ausgeprägten Nagelbefall (subunguale Hyperkeratose) aufwiesen, um für die multiplen Anzuchtungen auch genug Material zur Verfügung zu haben. Fälle, bei denen die Nagelabrasion keine hohe Materialgewinnung versprach, wurden nicht berücksichtigt. Abb. 28 zeigt das Erregerspektrum, der bei dieser Studie isolierten Onychomykoseerregers.



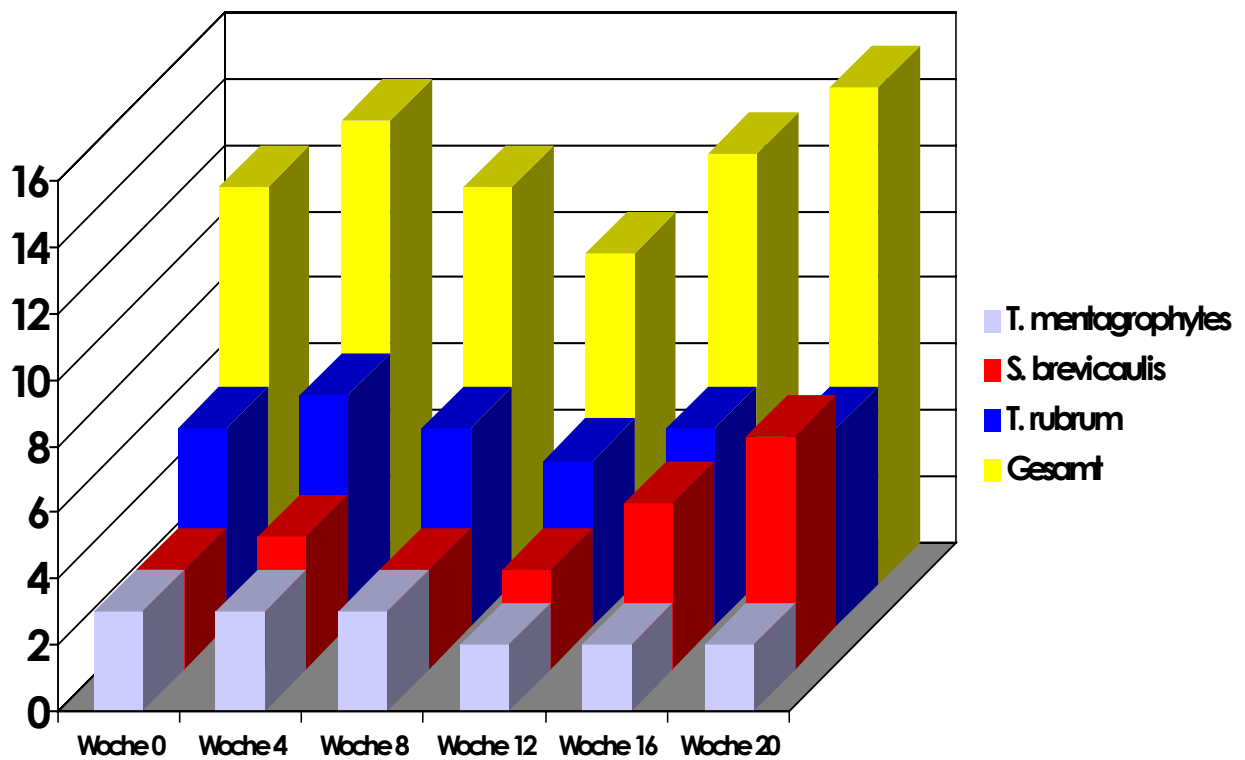
**Abb. 28: Spektrum der isolierten Erreger (n=26)**

Die relative hohe prozentuale Anteil des Schimmelpilz *Scopulariopsis brevicaulis* ist am ehesten mit dem hohen Alter des Gesamtkollektives (63,5 Jahre) zu erklären, da dieser Schimmelpilz gerade bei älteren Menschen häufig isoliert wird.

Aus dem Nagelmaterial der 22 Patienten konnten insgesamt 26 Pilzstämme (*Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Scopulariopsis brevicaulis*) in 132 Kultivierungsreihen innerhalb von 20 Wochen isoliert werden. In 76 (57,6 %) Pilzkulturen zeigte sich hierbei das Wachstum eines der oben genannten Onychomykoseerreger. Bei den restlichen 56 (42,4 %) Kultivierungsreihen zeigte sich entweder kein Wachstum oder es konnten nur Bakterien, Verunreinigungen durch Schimmelpilze oder eine nicht pathogene Hefe nachgewiesen werden. Tabelle 13 und Grafik 8 zeigen, wie häufig ein Erreger an den definierten Zeitpunkten angezüchtet werden konnte.

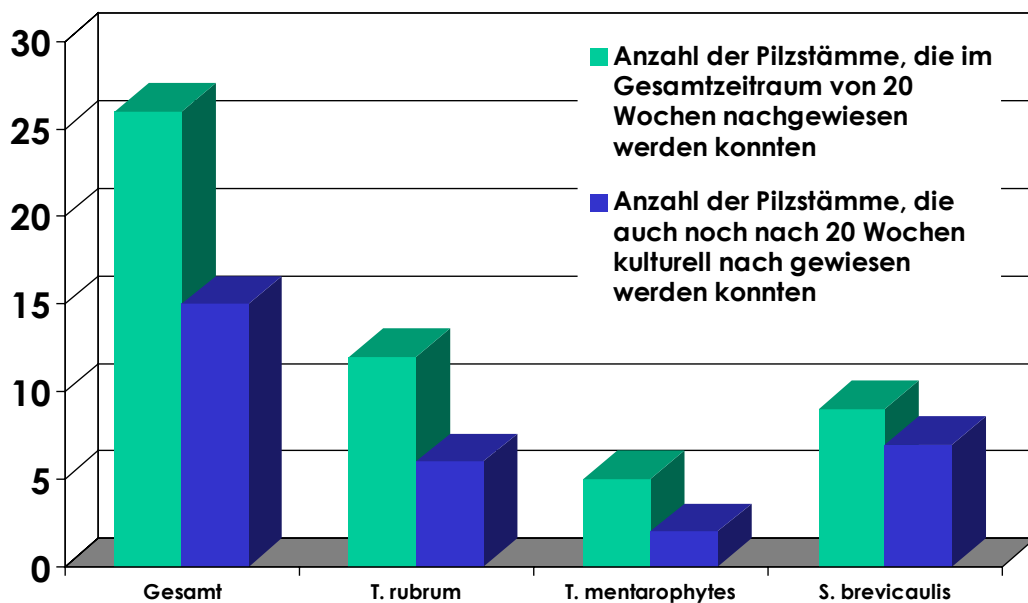
|                       | Woche<br>0 | Woche<br>4 | Woche<br>8 | Woche<br>12 | Woche<br>16 | Woche<br>20 |
|-----------------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|
| T. rubrum (12)        | 6          | 7          | 6          | 5           | 6           | 6           |
| T. mentagrophytes (5) | 3          | 3          | 3          | 2           | 2           | 2           |
| S. brevicaulis (9)    | 3          | 4          | 3          | 3           | 5           | 7           |
| Gesamt (26)           | 12         | 14         | 12         | 10          | 13          | 15          |

**Tabelle 13:** Häufigkeit der isolierten Erreger in einem Zeitraum 0-20 Wochen nach Abnahme des Nagelmaterials. (in Klammern ist die absolute Zahl der isolierten Erreger einer Pilzart in diesem Zeitraum angegeben)



**Abb. 29:** Grafische Darstellung von Tabelle 13

Wie schon bereits in dem Abschnitt Material und Methoden beschrieben, wurden für die kulturelle Anzüchtung bis zur 16. Woche nur sehr wenig der Nagelspäne (2 Impfösen jeweils auf Selektiv- bzw. Kimmig Agar) verimpft. In der 20. Woche wurde hingegen der Rest des Nagelmaterials je nach Menge der übriggebliebenen Nagelspäne meistens auf mehrere Agarplatten aufgetragen (bis max. 10 Agarplatten). Es wurde nun davon ausgegangen, dass ein Erreger, wenn er durch das Aufbringen der Restnagelspäne nicht mehr kulturell nachweisbar war, nicht mehr als pathogen anzusehen ist und somit nicht mehr lebt. Abb. 29 zeigt unter dieser Annahme das Verhältnis der insgesamt nachgewiesenen Pilzstämme in einem Zeitraum von 20 Wochen gegenüber den noch lebenden Erregern nach der 20. Woche.



**Abb. 30: Gegenüberstellung der Anzahl der insgesamt nachgewiesenen Erreger mit der Anzahl der Pilzstämme, die noch 20 Wochen nach der Materialabnahme nachweisbar waren.**

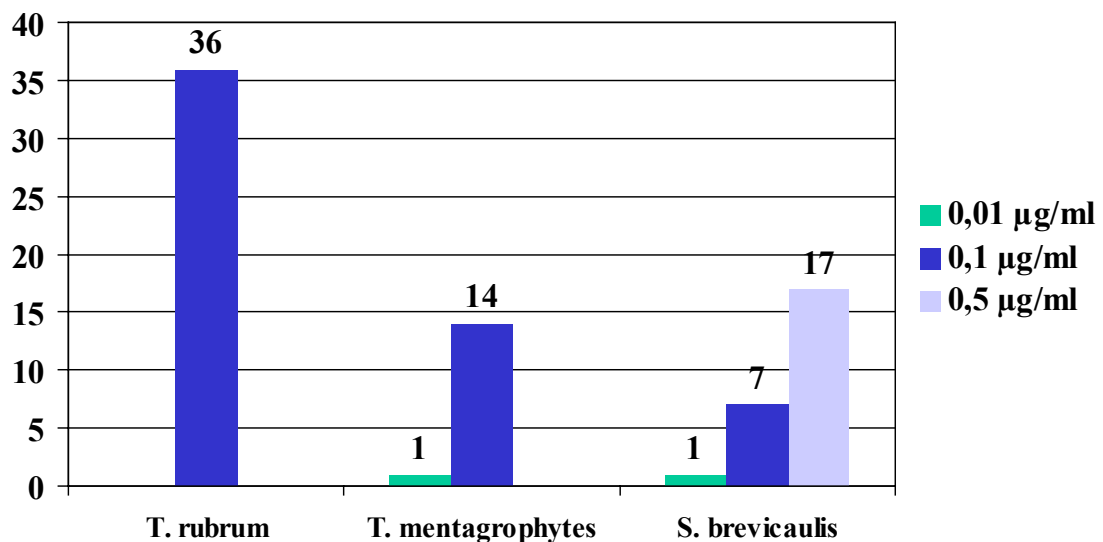


Von insgesamt 26 Pilzstämmen konnten nach 20 Wochen noch 15 (57,7%) kulturell nachgewiesen werden. Bei *Trichophyton rubrum* waren es 50 % (6 von insgesamt 12 Stämmen), bei *Trichophyton mentagrophytes* konnten nur 40 % (2 von insgesamt 5) der Pilzstämmen noch angezüchtet werden. Bei dem Schimmelpilz *Scopulariopsis brevicaulis* konnte mit 77,8 % (7 von 9) am häufigsten nach 20 Wochen noch ein Pilzwachstum beobachtet werden. Da *Scopulariopsis brevicaulis* aber auch als Anflugkeim beim Beimpfen in die Kulturschalen gelangen kann, ist kritischerweise eine sekundäre Kontamination nicht ausgeschlossen. *Trichophyton rubrum* und *Trichophyton mentagrophytes* hingegen gelten nicht als Anflugkeime und entstammen somit sicher aus der Nagelspäne.

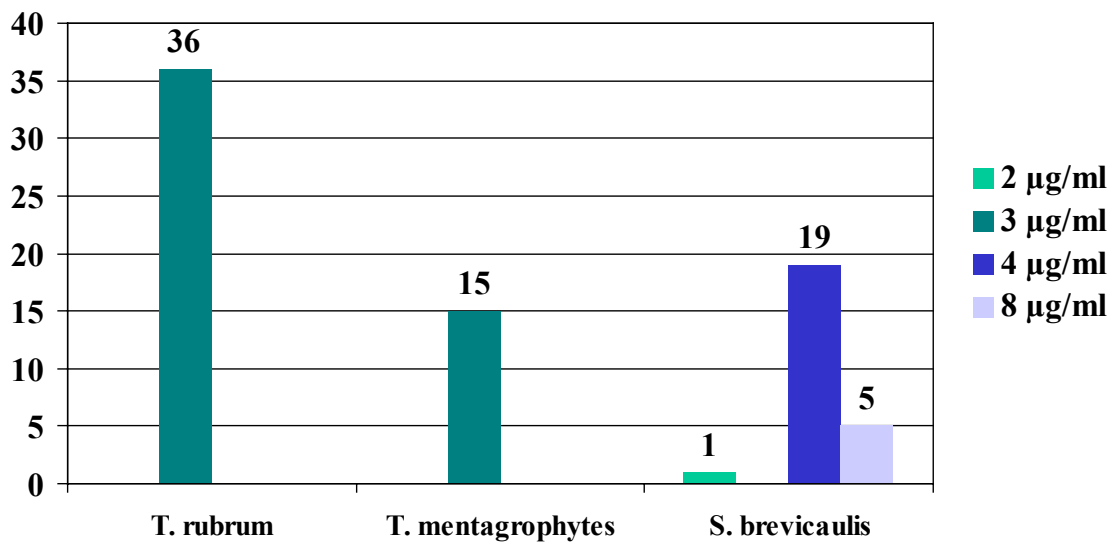
#### 4.4. Minimale Hemmkonzentrationen (MHK) der Antimykotika

Von den 76 positiven Kulturen aus insgesamt 26 Pilzstämmen wurden mittels Mikrodilutionstest insgesamt 456 minimale Hemmkonzentrationen für die Antimykotika Amorolfen, Ciclopirox, Fluconazol, Itraconazol und Terbinafin ermittelt.

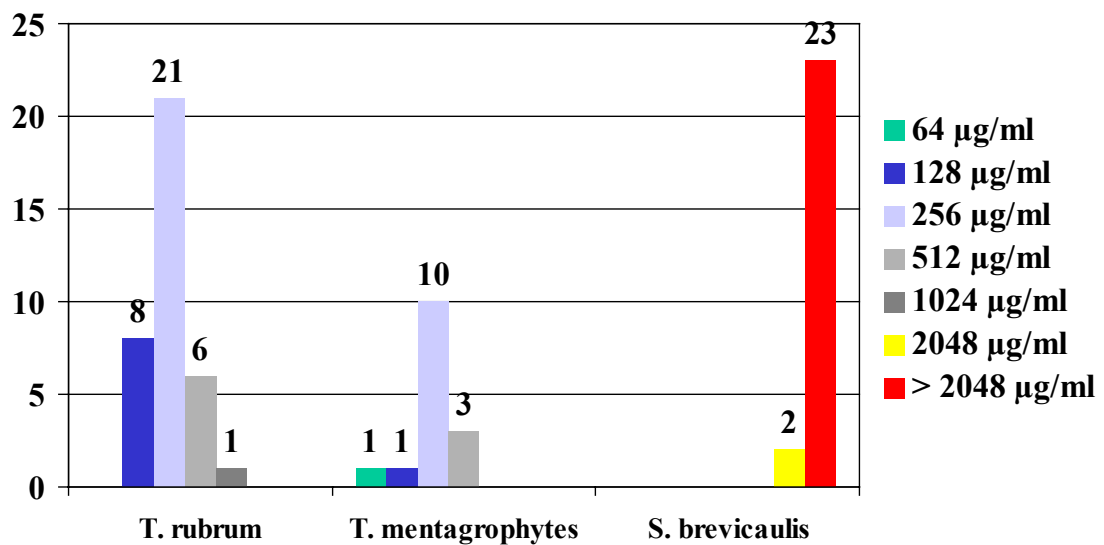
Im folgenden ist die Häufigkeit der MHK Werte der einzelnen Antimykotika für die getesteten Pilzarten in den Abb. 31-35 dargestellt.



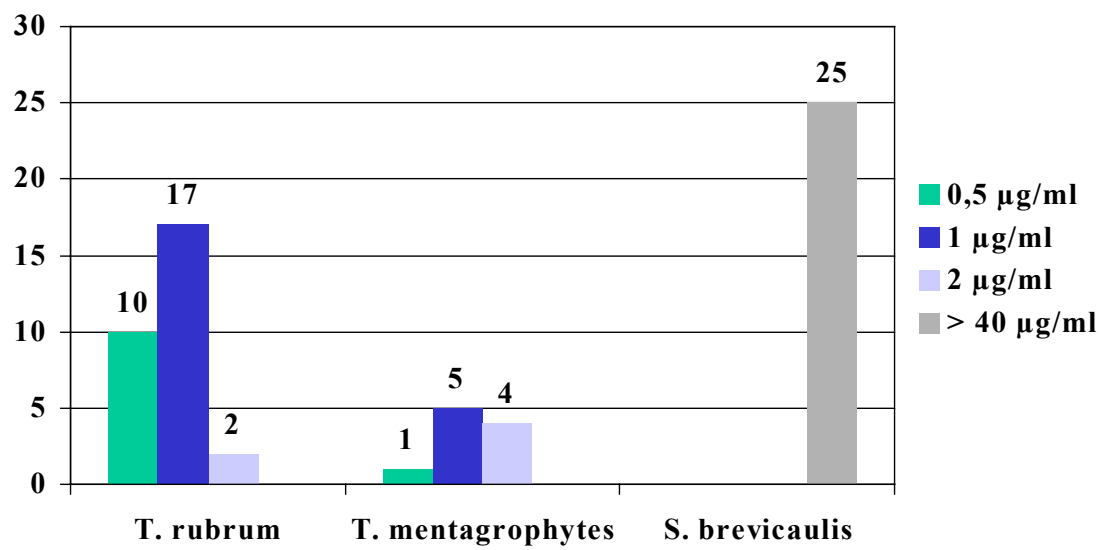
**Abb. 31: Häufigkeitsverteilung der minimalen Hemmkonzentrationen von Amorolfen bei den häufigsten isolierten Erregern**



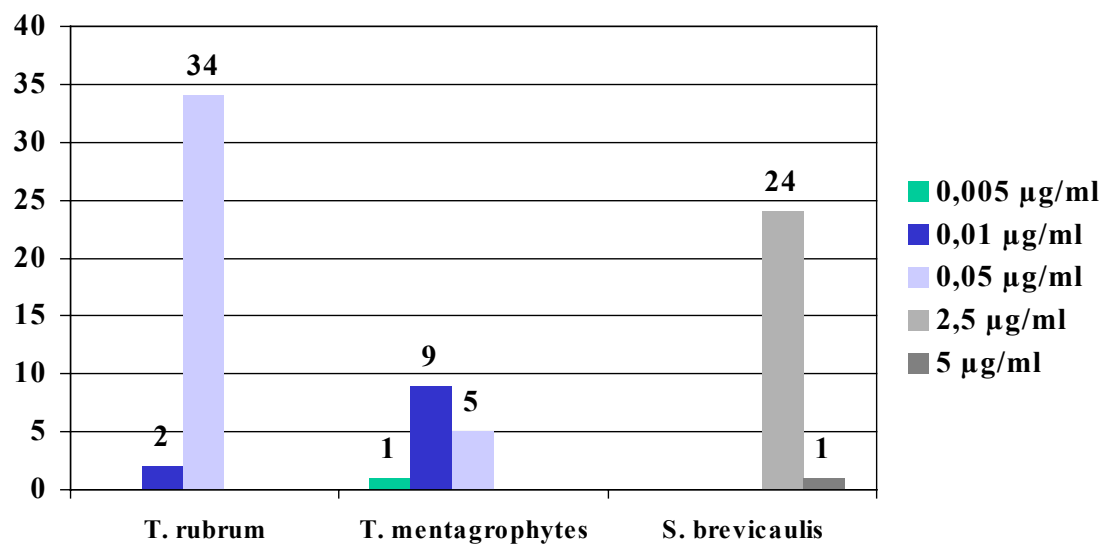
**Abb. 32: Häufigkeitsverteilung der minimalen Hemmkonzentrationen von Ciclopirox bei den häufigsten isolierten Erregern**



**Abb. 33: Häufigkeitsverteilung der minimalen Hemmkonzentrationen von Fluconazol bei den häufigsten isolierten Erregern**



**Abb. 34: Häufigkeitsverteilung der minimalen Hemmkonzentrationen von Itraconazol bei den häufigsten isolierten Erregern**



**Abb. 35: Häufigkeitsverteilung der minimalen Hemmkonzentrationen von Terbinafin bei den häufigsten isolierten Erregern**

## **Amorolfin**

Für das Antimykotikum Amorolfin ließen sich für alle drei Pilzarten insgesamt 3 minimale Hemmkonzentrationen (MHK) ermitteln. Für die beiden Dermatophyten ließ sich fast durchgehend 0,1 µg/ml als MHK messen, nur eine Messung bei einem Trichophyton mentagrophytes wies eine MHK von 0,01 µg/ml. Die MHKs für Scopulariopsis brevicaulis verteilten sich auf drei Verdünnungsstufen (0,01, 0,1 und 0,5 µg/ml), wobei ein deutlicher Spitzenwert bei 0,5 µg/ml zu sehen ist.

## **Ciclopirox**

Auch für Ciclopirox zeigte eine sehr konstantes Verhalten der MHKs bei den beiden Dermatophyten. Es konnte bei allen Messungen nur eine MHK (3 µg/ml) für beide Pilzarten registriert werden. Wie bei Amorolfin verteilten sich die MHKs für Scopulariopsis brevicaulis auf 3 Verdünnungsstufen (2, 4 und 8 µg/ml) mit einem Spitzenwert bei 4 µg/ml (n=19).

## **Fluconazol**

Das Triazolantimykotikum Fluconazol wies im Vergleich mit den anderen Substanzen die weitaus höchsten minimalen Hemmkonzentrationen auf. Auch zeigte sich vor allem bei den Dermatophyten eine relativ breite Konzentrationsverteilung auf insgesamt 4 Verdünnungsstufen (128, 256, 512 und 1024 µg/ml bzw. 64, 128, 256 und 512 µg/ml) mit einer Bevorzugung von 256 µg/ml (n=21 bzw. 10). Gegenüber Scopulariopsis brevicaulis zeigte Fluconazol zumindest in vitro keine Wirkung. Bis auf 2 Messungen bei 2048 µg/ml lagen alle anderen Hemmkonzentrationen über der höchsten Verdünnungsstufe (2048 µg/ml).

## **Itraconazol**

Auch bei dem Triazol Itraconazol zeigte sich ein ähnliches Bild. Hier konnten zwar für die Dermatophyten deutlich niedrigere MHKs ermittelt werden, aber wie bei Fluconazol zeigte sich keine in vitro Wirkung gegen den Schimmelpilz *Scopulariopsis brevicaulis*. Hier lagen alle Messungen über der maximal getesteten Verdünnungsstufe von 40 µg/ml.

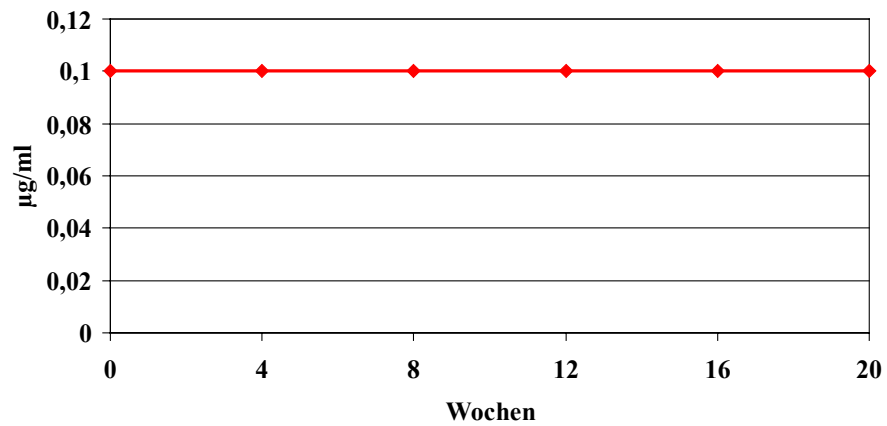
## **Terbinafin**

Für das Allylamin Terbinafin konnten die niedrigsten minimalen Hemmkonzentrationen ermittelt werden. Während sie bei *Trichophyton rubrum* bei zwischen 0,01 bis 0,05 µg/ml mit einem Peak bei 0,05 µg/ml lagen, konnten für *Trichophyton mentagrophytes* im Durchschnitt etwas niedrigere MHK zwischen 0,005 und 0,05 µg/ml mit einem Spitzenwert bei 0,01 µg/ml beobachtet werden.

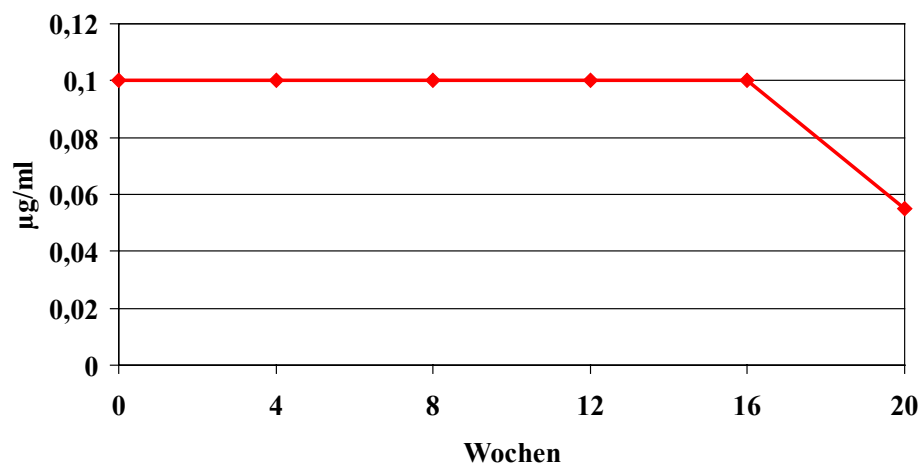
## **Verlauf der durchschnittlichen minimalen Hemmkonzentrationen in der Beobachtungszeit von 20 Wochen**

Die durchschnittliche minimale Hemmkonzentration der einzelnen Erreger gegenüber den fünf getesteten Antimykotika über einen Zeitraum von 20 Wochen wird dargestellt und dokumentiert in den Abb. 36-48. Der zeitliche Verlauf in Wochen wird auf der X-Achse dargestellt. Auf der Y-Achse wird die durchschnittliche minimale Hemmkonzentration in µg/ml widergegeben.

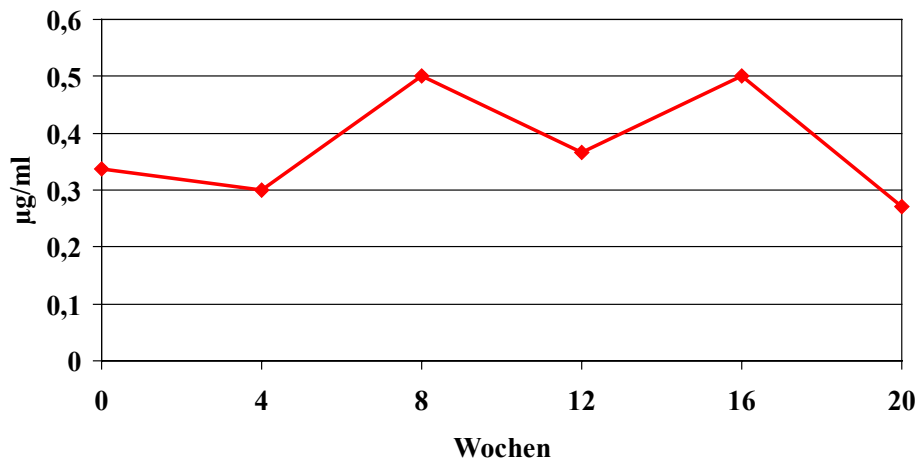
## Amorolfin



**Abb. 36: *Trichophyton rubrum*: Verlauf der durchschnittlichen minimalen Hemmkonzentration von Amorolfin in einem Zeitraum von 20 Wochen**



**Abb. 37: *Trichophyton mentagrophytes*: Verlauf der durchschnittlichen minimalen Hemmkonzentration von Amorolfin in einem Zeitraum von 20 Wochen**

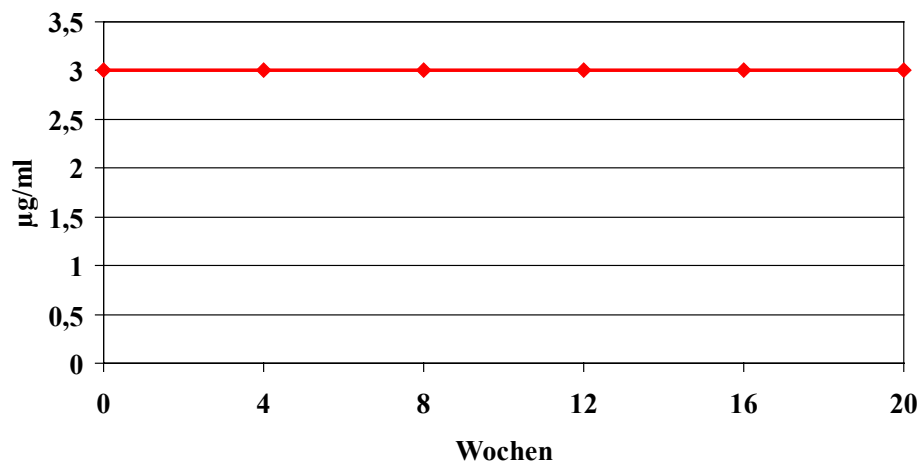


**Abb. 38: *Scopulariopsis brevicaulis*: Verlauf der durchschnittlichen minimalen Hemmkonzentration von Amorolfin in einem Zeitraum von 20 Wochen**

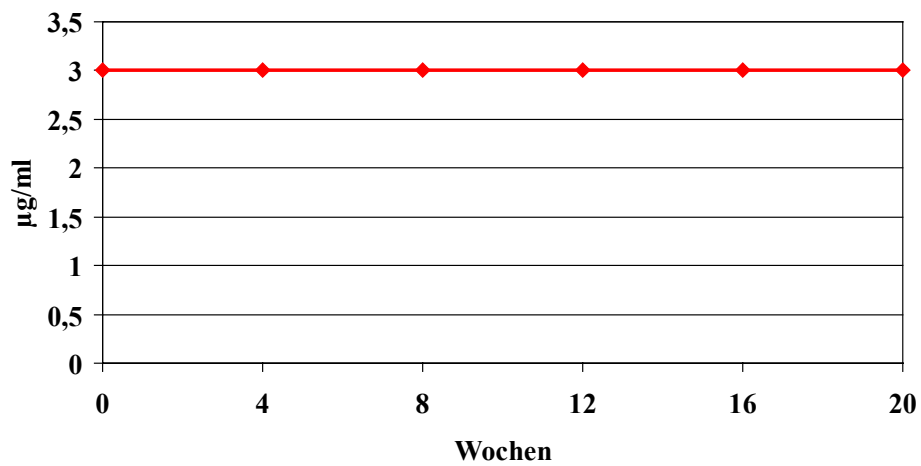
*Trichophyton rubrum* zeigt gegenüber Amorolfin (Abb. 36) ein völlig konstantes Verhalten der minimalen Hemmkonzentration im getesteten Zeitraum. Auch *Trichophyton mentagrophytes* ist bis zur 16. Woche konstant bei 0,1 µg/ml. In der 20. Woche kommt es zu einem leichten Abfall der durchschnittlichen MHKs um 0,045 µg/ml, da hier einmalig 0,01 µg/ml gemessen werden konnte. Die durchschnittlichen MHKs schwanken für *Scopulariopsis brevicaulis* zwischen 0,27 µg/ml und 0,5 µg/ml. Ein eindeutiger Abwärts- oder Aufwärtstrend lässt sich nicht erkennen.



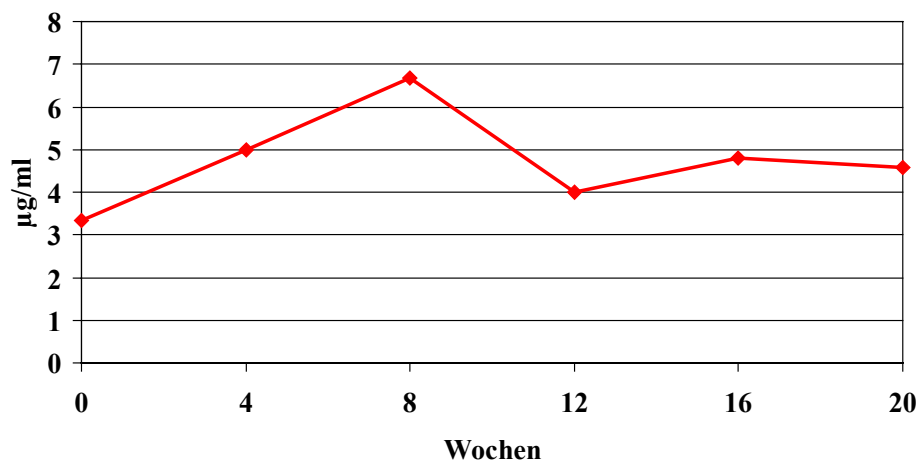
## Ciclopirox



**Abb. 39: Trichophyton rubrum: Verlauf der durchschnittlichen minimalen Hemmkonzentration von Ciclopirox in einem Zeitraum von 20 Wochen**



**Abb. 40: Trichophyton mentagrophytes: Verlauf der durchschnittlichen minimalen Hemmkonzentration von Ciclopirox in einem Zeitraum von 20 Wochen**



**Abb. 41: *Scopulariopsis brevicaulis*: Verlauf der durchschnittlichen minimalen Hemmkonzentration von Ciclopirox in einem Zeitraum von 20 Wochen**

Auch Ciclopirox zeigte für beide Dermatophyten einen völlig konstanten Verlauf der durchschnittlichen minimalen Hemmkonzentration bei jeweils 3 µg/ml.

Die MHKs von *Scopulariopsis brevicaulis* gegenüber Ciclopirox hielten sich in einem Bereich zwischen 3,33 und 6,66 µg/ml auf.

## Fluconazol

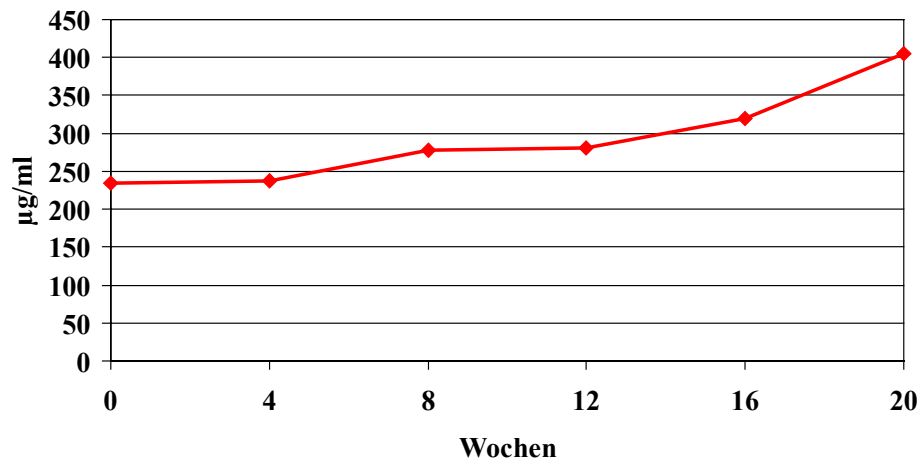


Abb. 42: *Trichophyton rubrum*: Verlauf der durchschnittlichen minimalen Hemmkonzentration von Fluconazol in einem Zeitraum von 20 Wochen

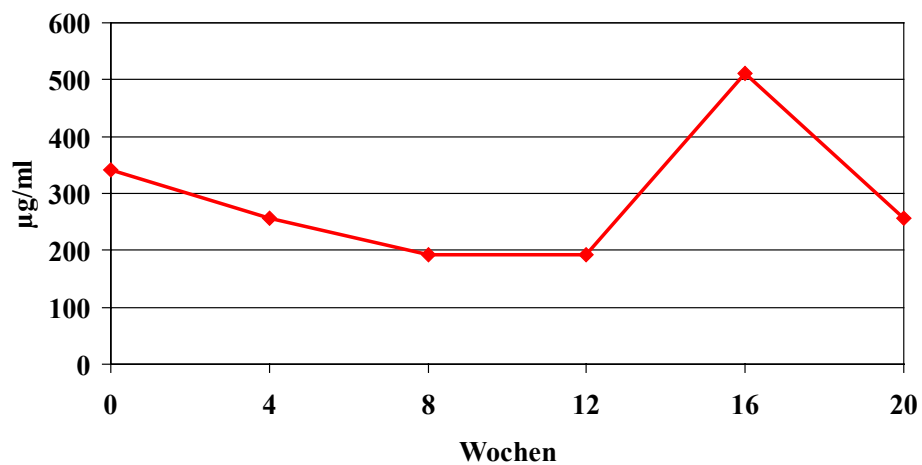
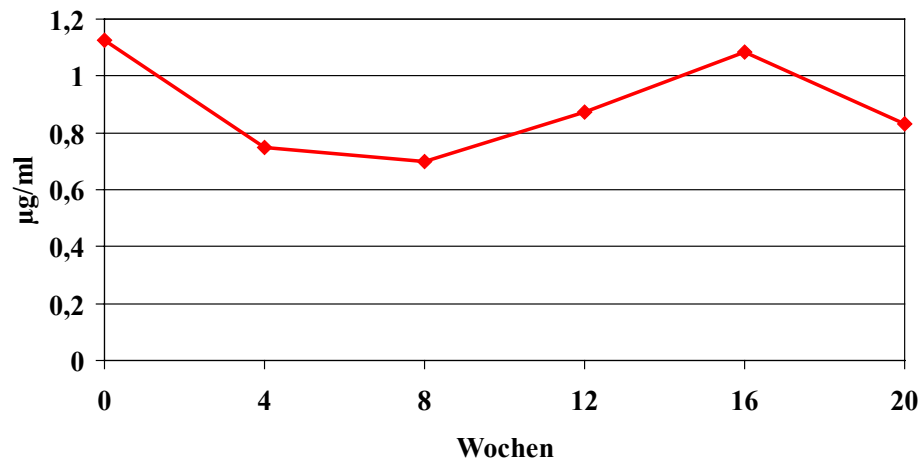


Abb. 43: *Trichophyton mentagrophytes*: Verlauf der durchschnittlichen minimalen Hemmkonzentration von Fluconazol in einem Zeitraum von 20 Wochen

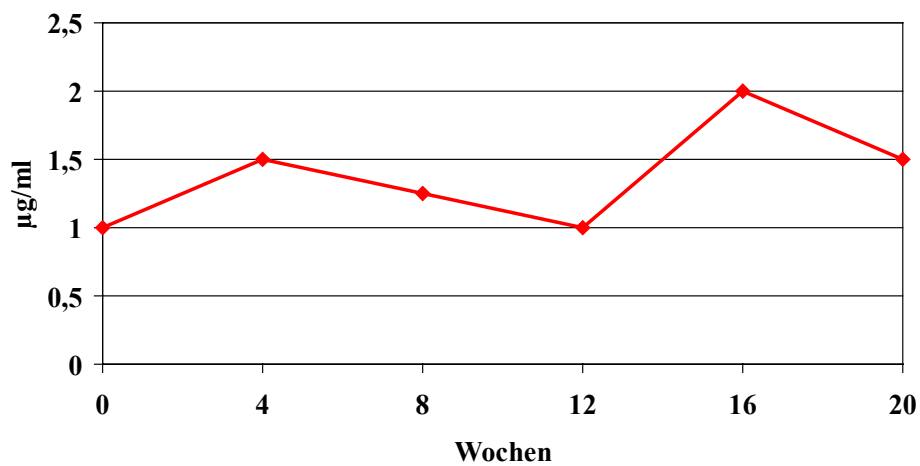
Der Verlauf der minimalen Hemmkonzentration von Fluconazol gegenüber *Trichophyton rubrum* zeigt leichtes Ansteigen der MHK von 234,67 auf zuletzt 405,33 µg/ml. Dies entspricht einer Zunahme von 170,66 µg/ml. Allerdings ließ sich ein Aufwärtstrend bei *Trichophyton mentagrophytes* nicht ermitteln.

Auf eine graphische Darstellung des durchschnittlichen Verlaufes der MHK für *Scopulariopsis brevicaulis* wurde verzichtet, da bis auf 2 Ausnahmen alle erhobenen Messwerte über der maximal getesteten Konzentration von 2048 µg/ml lagen.

## Itraconazol



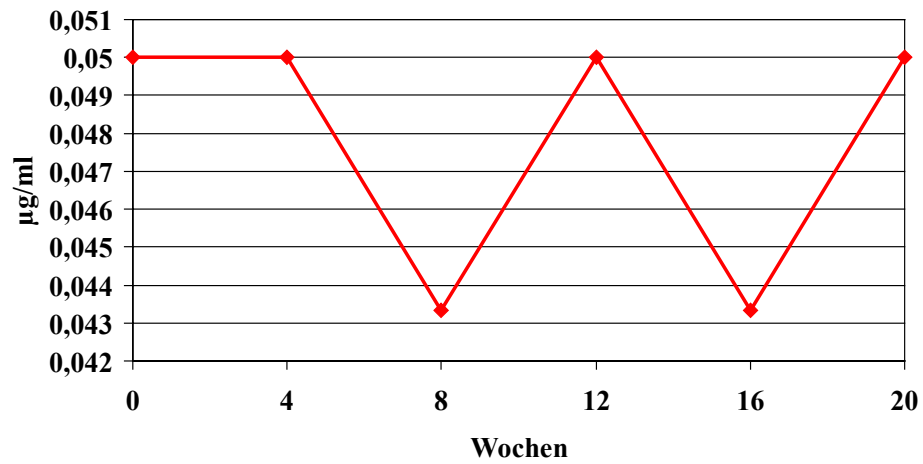
**Abb. 44: *Trichophyton rubrum*: Verlauf der durchschnittlichen minimalen Hemmkonzentration von Itraconazol in einem Zeitraum von 20 Wochen**



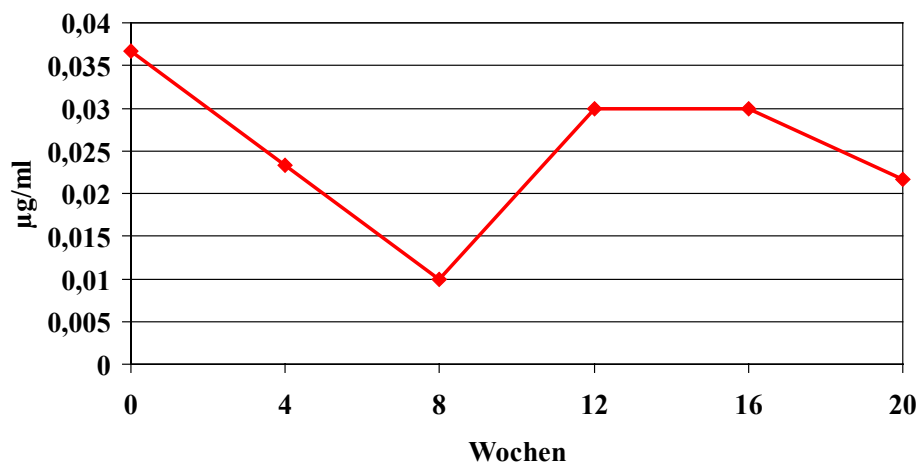
**Abb. 45: *Trichophyton mentagrophytes*: Verlauf der durchschnittlichen minimalen Hemmkonzentration von Itraconazol in einem Zeitraum von 20 Wochen**

Für Itraconazol ist gegenüber den beiden Dermatophyten ein schwankendes Verhalten der durchschnittlichen minimalen Hemmkonzentrationen abzulesen. Bei *Trichophyton rubrum* lagen die MHKs in einem Bereich von 0,7 und 1,125 µg/ml, bei *Trichophyton mentagrophytes* lag dieser Bereich bei 1 und 2 µg/ml. Auf eine grafische Darstellung für *Scopulariopsis* wurde wegen schon bei Fluconazol beschriebenen Gründen verzichtet.

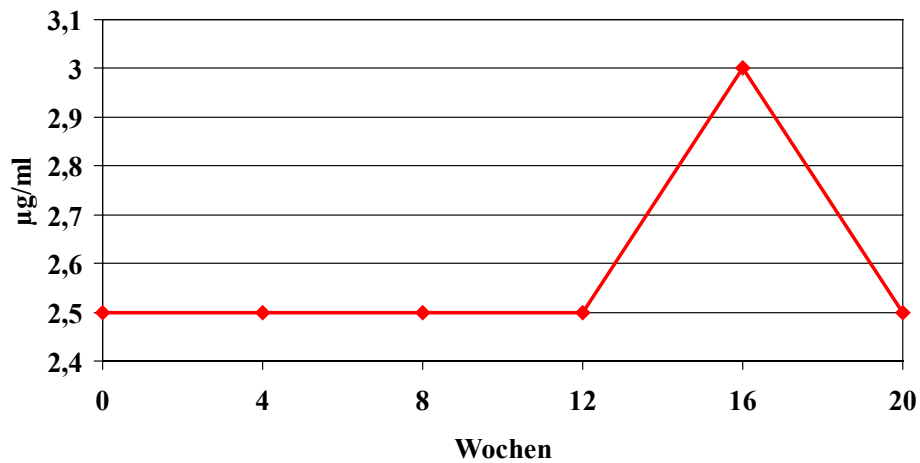
## Terbinafin



**Abb. 46: Trichophyton rubrum: Verlauf der durchschnittlichen minimalen Hemmkonzentration von Terbinafin in einem Zeitraum von 20 Wochen**



**Abb. 47: Trichophyton mentagrophytes: Verlauf der durchschnittlichen minimalen Hemmkonzentration von Terbinafin in einem Zeitraum von 20 Wochen**



**Abb. 48: *Scopulariopsis brevicaulis*: Verlauf der durchschnittlichen minimalen Hemmkonzentration von Terbinafin in einem Zeitraum von 20 Wochen**

Auch bei Terbinafin kann ein schwankendes Konzentrationsverhalten der Dermatophyten abgelesen werden. Allerdings bewegen sich diese Schwankungen in sehr engen Grenzen. Bei *Trichophyton rubrum* lag dieser Bereich zwischen 0,0433 und 0,05 µg/ml (Differenz 0,0067 µg/ml). Für *Trichophyton mentagrophytes* lag dieser Bereich zwischen 0,01 und 0,037 µg/ml (Differenz 0,027 µg/ml).

Auch *Scopulariopsis brevicaulis* zeigte bis auf eine Ausnahme in der 16. Woche einen völligen konstanten Verlauf der minimalen Hemmkonzentration bei 2,5 µg/ml. In Woche 16 wurde einmalig eine MHK von 5 µg/ml für ein Isolat bestimmt.



## **5. Diskussion**

### **5.1. Demographische Befunde**

Bei den für diese Studie rekrutierten Patienten handelte sich um ambulante und stationäre Patienten der Universitäts-Hautklinik Marburg. Das Einzugsgebiet der Hautklinik besteht aus dem Stadtgebiet Marburg und den umliegenden ländlichen Gebieten. Betrachtet man die Altersverteilung der rekrutierten Patienten, so fällt auf, dass die meisten Patienten zwischen 50 und 79 Jahren alt sind.

Die „Achilles-Studie“ konnte zeigen, dass 70 % aller an Onychomykose Erkrankten zwischen 18 und 65 Jahren alt sind. 23 % sind älter als 65 und nur 6 % sind Kinder. Für die vorgelegte Studie war es von Vorteil, eher Patienten mit schon fortgeschrittener Onychomykose zu finden, um genügend Nagelmaterial für die Untersuchungen zu gewinnen. Solche Nagelveränderungen sind meistens bei älteren Menschen zu finden, da diese häufig Schwierigkeiten, haben die Nagelpflege selbstständig durchzuführen. Aber auch das kosmetische Bewusstsein ist bei sehr betagten Menschen oft nicht mehr so stark ausgeprägt. Aus den oben genannten Gründen scheint die Altersverteilung in dieser Studie nicht repräsentativ für das Gesamtkollektiv aller Personen mit Nagelmykosen im Einzugsgebiet der Universitätsklinik Marburg zu sein.

In dieser Studie lag auch eine Bevorzugung des männlichen Geschlechtes (59%) gegenüber den Frauen (41%) vor. Da es aber in der Literatur widersprüchliche Angaben über eine Geschlechtsbevorzugung gibt, ist die Frage, ob die Onychomykosen ein gewisses Geschlecht bevorzugen, nicht mit letzter Sicherheit zu klären.

Heikkilä et al. (42) fand eine Bevorzugung des männlichen Geschlechtes, während Sais et al. (76) von einer vermehrten Häufigkeit bei Frauen berichten. Auch die „Achilles-Studie“, die in Europa und in Asien durchgeführt wurde, zeigt zwei verschiedene Ergebnisse. Während in Europa eher die Männer häufiger an einer Onychomykose erkrankten, waren es in Asien die Frauen, die vermehrt an Nagelmykosen litten (39).

## **5.2. Prädisponierende Faktoren**

Als Risikofaktoren für eine Onychomykoseerkrankung gelten Diabetes mellitus, arterielle und venöse Durchblutungsstörungen, Psoriasis, Neuropathien, Traumen der Nägel, immunologische Störungen, eine Vorerkrankung mit Tinea pedis und eine familiäre Veranlagung (12, 15, 31, 33, 35, 39, 51, 64, 93, 98). Bei dieser Studie konnten bei den 22 untersuchten Patienten insgesamt 33 prädisponierende Faktoren eruiert werden. Maximal lagen bei einem Patienten 4 Faktoren vor. Bei nur 5 Patienten (22,7 %) ließen sich keine Risikofaktoren ermitteln.

Wie in der „Achilles-Studie“ (39) entfielen 24% der prädisponierenden Faktoren auf Durchblutungsstörungen der unteren Extremität. Mit 15 % war bei dieser Studie die Anzahl der Diabetiker höher als bei dem „Achilles-Projekt“, wo der Diabetes mellitus sowohl in der asiatischen als auch in der europäischen Gruppe unter 10 % lag. Dies kann mit dem überdurchschnittlichen Alter der Patienten in dieser Studie erklärt werden (35, 39). Für die anderen oben aufgeführten Faktoren liegen keine sicheren Zahlen bezüglich ihrer genauen Häufigkeit vor. Sicher scheint jedoch zu sein, dass sie mit einem erhöhten Risiko für die Onychomykosen einhergehen.

### 5.3. Nativpräparate und Kulturen

Kolczak (48) konnte bei einer früheren Studie im Hause mit derselben elektrischen Fräse zeigen, dass bei ca. 86% der positiven Kulturen auch ein positives Nativpräparat nachzuweisen war, wenn die Entnahme des Probenmaterials mit der Fräsmethode erfolgte. Auch konnte hier gezeigt werden, dass beim Fräsen eine signifikant höhere Ausbeute an positiven Kulturen gegenüber der herkömmlichen Materialabnahmemethode erreicht werden kann. Allerdings gibt es in der Literatur ein Pro und Contra in Bezug auf die Fräsmethode gegenüber der normalen Klippmethode (23, 41).

Bei dieser Studie konnten insgesamt nur bei 68,2 % der positiven Pilzkulturen auch ein positives Nativpräparat nachgewiesen werden. Wenn allerdings nur die Dermatophyten betrachtet werden, konnten auch hier in 80 % (*Trichophyton mentagrophytes*) bis 83,3 % (*Trichophyton rubrum*) der Fälle positive Nativpräparate bei positiven Kulturen festgestellt werden. Bei dem Schimmelpilz *Scopulariopsis brevicaulis*, der auch als Anflugkeim gilt, lag die Übereinstimmung diesbezüglich nur bei 44,4 %, was eventuell für eine sekundäre Kontamination der Nagelspäne bei der Lagerung sprechen könnte.

#### 5.4. Erregerspektrum

Die Dermatophyten gelten als die am häufigsten isolierte Pilzart bei an Onychomykose erkrankten Patienten. Hierbei ist besonders *Trichophyton rubrum* (bis zu 89%) als häufigster isolierter Keim, gefolgt von *Trichophyton mentagrophytes* mit knapp 10 % hervorzuheben. In den 1961-67 und im Jahr 1985 wurden an der Universitätshautklinik Marburg verschiedene Onychomykosestudien durchgeführt. Auch hier zeigte sich (Tabelle 14), dass die Dermatophyten den größten Anteil der isolierten Erreger ausmachten. Der Schimmelpilz *Scopulariopsis brevicaulis* und verschiedene *Candida* Spezies konnten insgesamt nur mit einem Anteil von 26,3 % (1961-67) bzw. 25,5 % (1985) isoliert werden (48).

|                                    | 1961-1967 | 1985   | 1998 |
|------------------------------------|-----------|--------|------|
| <i>Trichophyton rubrum</i>         | 42,4 %    | 51,8 % | 46 % |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> | 19,2 %    | 12,7 % | 19 % |
| <i>Scopulariopsis brevicaulis</i>  | 10,0 %    | 8,2 %  | 35 % |
| <i>Candida</i> Spezies             | 16,3 %    | 17,3 % | 0 %  |
| Sonstige                           | 12,1 %    | 10,0 % | 0 %  |

**Tabelle 14: Häufige Erreger der Onychomykosen der Zehennägel im Einzugsbereich der Universitätshautklinik Marburg (48)**

Wie schon 1961-1967 und 1985 gezeigt werden konnte, nehmen auch bei der vorgestellten Studie, die Dermatophyten *Trichophyton rubrum* und *Trichophyton mentagrophytes* mit 65 % eine dominierende Stellung im Erregerspektrum der Onychomykosen ein. Es ist aber auffällig, dass der Schimmelpilz *Scopulariopsis brevicaulis* diesmal mit 35 % deutlich häufiger

isoliert werden konnte als in den Vorjahren. Ferner fällt auf, dass keine Hefen oder sonstige Pilze gefunden werden konnten.

Dies kann wieder mit der Patientenauswahl aufgrund des Studiendesigns erklärt werden. Der Schimmelpilz *Scopulariopsis brevicaulis* wird gehäuft bei älteren Menschen gefunden. Da aber gerade ältere Patienten mit ausgeprägten Nagelveränderungen für die Studie rekrutiert wurden, kann das gehäufte Auftreten von *Scopulariopsis brevicaulis* erklärt werden.

### **5.5. Überlebenszeit der Onychomykoseerreger unter ex vivo Bedingungen**

Schönborn konnte schon 1989 zeigen, dass *Trichophyton rubrum* (142 Monate) und *Trichophyton mentagrophytes* (74 Monate) unter optimalen Bedingungen sehr lange z.B. durch Einbettung in Paraffinöl überleben können. Auch *Scopulariopsis brevicaulis* konnte unter diesen Bedingungen nach 137 Monate noch angezüchtet werden (84). Diese Methode und andere Verfahren wie z.B. die Tiefkühlagerung im flüssigen Stickstoff oder auch die Lagerung in sterilen destillierten Wasser reduzieren die Stoffwechselaktivität auf ein Minimum oder stoppen diese sogar gänzlich. Hauptsächlich werden diese Verfahren zur Überimpfung bei dem Erhalt einer medizinischen Mykothek angewendet. Bei Lagerung des originalen Materials (Haut, Nagel, Haare) allerdings konnten mehrere Autoren nur eine maximale Überlebenszeit von hautpathogenen Pilzen zwischen 6 Monaten und 4 Jahren feststellen (17, 47, 67).

Gerade die Nagelspäne, die bei der Abrasion durch eine elektrische Fräse entsteht, kann ein Risiko für pulmonale Erkrankungen darstellen. Abramson (3, 4) konnte durch Vermessen von Nagelspäne herausfinden,

dass der größte Teil dieser Späne eine Größe zwischen 1 bis 2 µm aufwies. Diese Partikel können bis zu 86 % in die Bronchiolen und Alveolen gelangen und 31 % der Partikel werden dort deponiert. Weiterhin konnte Abramson zeigen, dass bis zu 29 % der Fußpfleger in der U.S.A. und in England erhöhte Antikörpertiter gegen *Trichophyton rubrum* im Serum aufwiesen. Folgen einer langanhaltenden Exposition gegenüber Nagelspäne können somit Pneumokoniosen und allergisches Asthma sein.

Bei der vorgelegten Arbeit konnte gezeigt werden, dass auch in der Nagelspäne, die unter ex-vivo Bedingungen gelagert wurde, Onychomykoseerreger mindestens 20 Wochen überleben können. Bei *Trichophyton rubrum* waren es 50 %, bei *Trichophyton mentagrophytes* 40 %. *Scopulariopsis brevicaulis* Stämme konnten in 77,8 % der Fälle noch nach 20 Wochen aus der Nagelspäne kulturell isoliert werden. Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen Götz und Hertlein (28). Sie fanden heraus, dass bereits nach einer 4 wöchigen Lagerung der pilzhaltigen Schuppen die Ausbeute bei der Wiederanzüchtung um mehr als die Hälfte abnimmt.

Da aber mit geeigneten Aufbewahrungsmethoden ein Überleben von einzelnen Pilzstämmen bis zu 12 Jahren nachgewiesen werden konnte (84), muss davon ausgegangen werden, dass Pilzstämmen auch wesentlich länger als der getestete Zeitraum von 20 Wochen in der Nagelspäne pathogen bleiben können. Folglich sollte pilzhaltige Nagelspäne auch lange nach der Entnahme als potentiell gesundheitsschädlich angesehen werden. Auch die weitere Verbreitung der Erreger in Haushalt und Umwelt durch den Onychomykosepatienten ist somit möglich.

Auf der anderen Seite konnte in dieser Studie auch herausgestellt werden, dass ein schnelles Verarbeiten des Nagelmaterials nötig ist, um eine gute Ausbeute bei der mykologischen Diagnostik zu erzielen.

## **5.6. Minimale Hemmkonzentration der Antimykotika**

Zur Bestimmung der minimalen Hemmkonzentrationen (MHK) von hautpathogenen Pilzen gegenüber Antimykotika wurden in den letzten 10-20 Jahren mehrere Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung entwickelt wie z.B. der Agardiffusionstest, die E-Test Methode, der Makrodilutionstest und der Mikrodilutionstest (49, 50, 60, 80, 81, 82, 83). Hierbei wird der Mikrodilutionstest, der auch in der vorliegenden Studie angewendet wurde, in letzten Jahren bevorzugt, da mit ihm niedrigere bzw. reproduzierbarere MHKs gerade bei den Dermatophyten ermittelt werden konnten (49, 60). Da jede Pilzart spezifische optimale Wachstumsbedingungen bevorzugen, ist es schwierig ein geeignetes Testverfahren für alle Pilze zu finden. Die Testung von Hefeisolaten wie z.B. *Candida albicans* gegenüber dem Azolantimykotikum Fluconazol ist jedoch bisher am besten untersucht (80, 81, 82). Hier gibt es gerade aus der Gruppe Schmalreck et. al. (80, 81, 82, 83) mehrere Standardisierungsvorschläge, um eine bessere Reproduzierbarkeit der Testmethode zu erreichen.

Bei allen Azolen bestand wegen ihrer alleinigen fungistatischen Wirkung das Problem, dass die MHKs aufgrund von Ableseproblemen bzw. Interaktionen mit den Nährböden bzw. dem Material, in dem die Testung durchgeführt wurde, schwankten.

Schmalreck (80) schlägt für die Empfindlichkeitsbestimmung von Hefen eine Standardisierung der Inokulumgröße, des Testmediums (HR-

Nährboden), der Testzeit, der Inkubationszeit, der Pufferung und der Testauswertung vor.

Diese Empfehlungen sind optimiert für die Testungen von Azolen gegen Hefepilzarten. Da die Dermatophyten eine wesentlich längere Wachstumszeit als Hefearten aufweisen, sind diese Vorschläge gerade in Bezug auf die Wachstumszeit und Inkubationstemperatur nicht übertragbar. Für die vorliegende Studie wurde eine Mikrodilutionsmethode mit einer Nährbullion (Nutrient Broth) verwendet, die von Korting et. al. (50, 60) in einer großangelegten Multizenterstudie 1995 angewendet wurde. Dieses Vorgehen stützte sich auf eine Testmethode, die 1980 erstmals von Artis und Granade (30) vorgeschlagen wurde. Korting et al. (50) testeten *Trichophyton rubrum* und *Trichophyton mentagrophytes* gegenüber den Antimykotika Ciclopirox, Itraconazol, Fluconazol und Terbinafin; eine Testung mit Amorolfen erfolgte nicht.

Unsere Ergebnisse zeigten eine sehr ähnliches Verteilungsmuster der MHK-Werte gegenüber den vier Antimykotika wie bei den Studien von Korting et al. (50). Die Autoren konnten für beide Pilzstämme gegen Ciclopirox in wenigen Fällen eine MHK von 2 µg/ml registrieren, während bei dieser Studie durchgehend eine MHK von 3 µg/ml ermittelt wurde. Im Gegensatz zu den vorliegenden Ergebnissen fand Korting (50) zusätzlich eine MHK von 0,1 µg/ml für ein Isolat eines *Trichophyton rubrum* gegenüber Itraconazol. Ansonsten ist das Verteilungsmuster der MHK-Werte vollkommen identisch mit einer leichten Differenz in der Gewichtung der einzelnen Konzentrationsstufen (50). Polak (66) konnte für Amorolfen gegenüber den Dermatophyten *Trichophyton rubrum* bzw. *Trichophyton mentagrophytes* eine MHK-Variationsbreite von <0,0013 bis



0,13 µg/ml feststellen. Auch die hier erhobenen MHKs lagen in diesem Bereich.

Gegenüber dem Schimmelpilz *Scopulariopsis brevicaulis* fanden sich für die Antimykotika Amorolfin, Ciclopirox und Terbinafin ähnliche MHK-Werte wie bei mehreren früheren Studien (8, 11, 66). Für die beiden Triazolantimykotika Fluconazol und Itraconazol konnte allerdings keine in vitro Aktivität gegenüber *Scopulariopsis brevicaulis* festgestellt werden. Für Fluconazol lagen die MHKs bei 2048 µg/ml oder darüber, für Itraconazol lagen alle Messungen über der maximal geprüften Konzentration von 40 µg/ml. Allerdings wurde eine klinische Heilung einer durch *Scopulariopsis brevicaulis* bedingten Onychomykose zumindest durch Itraconazol berichtet (13).

Ziel der vorliegenden Studie war auch zu zeigen, ob es zu einer Änderung der Empfindlichkeit der isolierten Erreger gegenüber den Antimykotika unter ex vivo Bedingungen kommt. Hintergrund dieser Fragestellung ist die Tatsache, dass es trotz Einsatz moderner, gut wirksamer Antimykotika immer wieder Therapieversager bei guter Compliance beobachtet werden (87). In letzter Zeit werden Resistenzentwicklungen gerade von verschiedenen Hefearten gegenüber Azolantimykotika wie Itraconazol, Fluconazol und Ketokonazol berichtet (97, 99). Vor allem bei Patienten mit einer HIV Infektion oder einer chronischen mukokutanen Candidose konnten Resistenzentwicklungen nachgewiesen werden (58, 91). In den meisten Fällen lag eine sekundäre Resistenzentwicklung vor. Aber gerade bei HIV Patienten wurden auch Fälle einer primären Resistenzentwicklung berichtet, deren Ursachen nicht mit letzter Sicherheit geklärt sind.

Für die fungizid wirkenden Antimykotika Amorolfin, Ciclopirox und Terbinafin konnten für *Trichophyton rubrum* und *Trichophyton mentagrophytes* fast durchgehend konstante MHKs in dem getesteten Zeitraum von 20 Wochen gefunden werden. Ciclopirox wies sogar eine einheitliche MHK von 3 µg/ml über den gesamten Zeitraum gegenüber beiden Dermatophyten auf. Die minimalen Schwankungen der durchschnittlichen Hemmkonzentrationen bei Amorolfin und Terbinafin sind am ehesten im Zusammenhang mit Messungenauigkeiten zu sehen.

Das fungistatisch wirkende Azolantimykotikum Itraconazol hingegen zeigt bei den beiden Dermatophyten einen schwankenden Verlauf der durchschnittlichen minimalen Hemmkonzentration, ohne dass sich ein Trend nach oben oder nach unten ablesen lassen konnte. Dies ist am ehesten durch die bekannte schlechtere Reproduzierbarkeit der MHKs bei den Azolderivaten zu erklären. Ein ähnliches Bild zeigt *Trichophyton mentagrophytes* gegenüber Fluconazol. Nur die Verlaufskurve von *Trichophyton rubrum* gegenüber Fluconazol zeigt eine aufsteigende Tendenz. Zu Beginn lag hier die durchschnittliche MHK bei 234,67 µg/ml, nach 20 Wochen lagen die durchschnittlichen MHKs bei 405,33 µg/ml, was einen Anstieg um 170,66 µg/ml entspricht. Ob dies nicht auch im Rahmen der verminderten Reproduzierbarkeit von MHK Werten bei Azolantimykotika zu sehen ist, kann nicht sicher geklärt werden. Fluconazol und Itraconazol zeigten gegen *Scopulariopsis brevicaulis* keine in vitro Aktivität. Ein Vergleich mit den Ergebnissen anderer Studien konnte nicht erfolgen, da ein ähnliches Studiendesign bisher nicht verwendet wurde.

Im Vergleich zu anderen früheren Studien konnte in der vorgelegten Arbeit ähnliche MHK-Werte für *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* und *Scopulariopsis brevicaulis* nachgewiesen werden.

Für eine etwaige Änderung der MHK-Werte für die getesteten Antimykotika fand sich somit keine Hinweise.

## 6. Zusammenfassung

Onychomykosen gelten auch noch heute als eine schwer zu behandelnde Dermatose. Trotz modernen systemischen und lokalen Antimykotika gibt es in ca. 10-20 % der Fälle Therapieversager. Da nicht in allen Fällen von Complianceproblemen ausgegangen werden kann, muss es noch andere Gründe hierfür geben. In den letzten Jahren werden gerade bei Hefepilzen Resistenzentwicklungen gegenüber bestimmten Antimykotika beschrieben. Hierbei werden arzneimittelinduzierte (sekundäre Resistenz) als auch genetische Gründe (primäre Resistenz) angegeben. In der vorliegenden Arbeit wird der Frage nachgegangen, ob es bei längerem ex-vivo Verbleiben von Onychomykoseerregern im Nagelmaterial zu einer spontanen Änderung der minimalen Hemmkonzentration gegen einige relevante Antimykotika kommt. Damit sollte auch aufgezeigt werden, ob die Bestandsdauer einer Onychomykose den Therapieerfolg beeinflusst. Zugleich sollte eine Aussage über die Überlebensfähigkeit von Onychomykoseerregern unter ex vivo Bedingungen im Nagelmaterial gemacht werden.

Die Auswertung der demographischen Daten ergab, dass das Patientenkollektiv bei dieser Studie einen höheren Altersdurchschnitt (63,5 Jahre) aufwies, als das man es für eine Universitätsstadt wie Marburg erwarteten dürfte. Dies ist mit der für die Arbeit notwendigen Patientenauswahl zu erklären. Des weiteren zeigte sich eine Bevorzugung des männlichen Geschlechtes (59 %) gegenüber einem Frauenanteil von 41 %. Ähnliche Ergebnisse fanden auch andere europäische Studiengruppen. 73,3 % der Patienten wiesen prädisponierende Faktoren für eine Onychomykoseerkrankung auf. Maximal lagen bei einem Patienten 4 dieser Faktoren gleichzeitig vor. Am häufigsten fand sich eine chronische oder rezidivierende Tinea pedis, gefolgt von den arteriellen

und venösen Durchblutungsstörungen, Diabetes mellitus, Nageltraumen, immunologischen Störungen, Neuropathien und Psoriasis. Der etwas erhöhte Anteil der Diabetiker im Vergleich mit Literaturangaben ist am ehesten auf das relativ hohe Durchschnittsalter des untersuchten Patientenkollektivs zurückzuführen.

Wie auch in den Jahren 1961-67 bzw. 1985 nahmen bei dieser Studie die Dermatophyten mit insgesamt 65 % eine dominante Stellung ein. Allerdings konnte in keinem Fall eine Hefe isoliert werden, dafür war der Anteil des Schimmelpilzes *Scopulariopsis brevicaulis* mit 35 % im direkten Vergleich stark erhöht. Auch dies könnte auf das besondere Patientenkollektiv (ältere Patienten) zurückzuführen sein.

Onychomykoseerreger können auch nach mindestens 20 Wochen unter ex-vivo Bedingungen aus infizierter Nagelspäne isoliert werden. Allerdings lag die Anzüchtungsrate nach diesem Zeitraum bei nur 50 % (*Trichophyton rubrum*) bzw. 40 % (*Trichophyton mentagrophytes*). Der Schimmelpilz *Scopulariopsis brevicaulis* scheint mit einer Anzüchtrate von 77,8 % nach 20 Wochen, länger im Nagelmaterial unter ex-vivo Bedingungen überleben zu können als Dermatophyten. Demnach müssten pilzhaltige Nagelspäne, die auch bei der Nagelabrasion in der medizinischen Fußpflege anfällt, auch noch 20 Wochen nach Entfernung als potentiell gesundheitsgefährdend angesehen werden. Dies gilt auch für Nagelmaterial, welches alltäglich bei Onychomykosepatienten anfällt.

Terbinafin wies gegenüber allen getesteten Pilzarten die niedrigsten minimalen Hemmkonzentrationen (0,005 bis 5 µg/ml) auf. Hiernach folgte Amorolfin (0,01 bis 0,5 µg/ml), dann Itraconazol (0,5 bis 2 µg/ml) und als drittes Antimykotikum Ciclopirox (2 bis 8 µg/ml). Für das Triazol Fluconazol

konnten insgesamt die höchsten MHKs (64 bis 2048 µg/ml) ermittelt werden. Das hohe Ausfallen der MHKs bei Fluconazol korreliert zumindest für die Dermatophyten nicht mit der klinischen Wirksamkeit. Das insgesamt hohe Ausfallen der MHKs ist auf die bekannte Problematik des unbeständigen Messverfahrens bei Fluconazol zurückzuführen (80). Beide Triazole wiesen ferner in vitro keine Wirksamkeit gegen den Schimmelpilz *Scopulariopsis brevicaulis* auf.

Die kinetische Auswertung der durchschnittlichen MHK in einem Zeitraum von 20 Wochen ergab für Ciclopirox und Amorolfen fast konstante MHKs bei 3 bzw. 0,1 µg/ml gegenüber den beiden getesteten Dermatophytenarten. Auch die durchschnittlichen MHKs für Terbinafin wiesen nur unbedeutende Schwankungen im getesteten Zeitraum auf. Die minimalen Hemmkonzentrationen für die Triazole Fluconazol und Itraconazol zeigten die größten Schwankungen im Zeitverlauf. Dies ist, wie bereits erwähnt, mit der verminderten Reproduzierbarkeit der Messmethode für Triazole zu erklären. Nur Fluconazol zeigte gegenüber *Trichophyton rubrum* einen konstanten Konzentrationsanstieg innerhalb von 20 Wochen um 170,66 µg/ml. Ob es sich hierbei um einen zufälligen Anstieg aufgrund von azol-spezifischen Messunbeständigkeiten handelt, ist jedoch nicht sicher auszuschließen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich bei den getesteten Pilzstämmen auch unter ex-vivo Bedingungen keine sichereren Hinweise für eine Änderung der Empfindlichkeit gegenüber den fünf Antimykotika fanden, die ein Versagen der antimykotischen Therapie etwa erklären könnten. Alle gemessenen MHK-Werte lagen innerhalb der jeweiligen artspezifischen Wertebereiche.

## Literaturverzeichnis

1. Diflucanderm - Mykosetherapie von innen - Wissenschaftliche Monographie.  
Pfizer GmbH, Karlsruhe (1994)
2. Itraconazol - Es gibt eine Lösung für System-Mykosen - Produktmonographie.  
Janssen-Cilag GmbH, Neuss (1999)
3. Abramson, C. , Wilton, J.  
Inhalation of nail dust from onychomycotic toenails. Part I. Characterization of particles.  
J Am Podiatr Med Assoc 75(11) 563-7 (1985)
4. Abramson, C. , Wilton, J.  
Nail dust aerosols from onychomycotic toenails. Part II. Clinical and serologic aspects.  
J Am Podiatr Med Assoc 75(12) 631-8 (1985)
5. Baran, R., Hay, R.J., Tosti, A., Haneke, E.  
A new classification of onychomycosis.  
Br J Dermatol 139(4) 567-71 (1998)
6. Baran, R., Tosti, A., Piraccini, B.M.  
Uncommon clinical patterns of Fusarium nail infection: report of three cases.  
Br J Dermatol 136(3) 424-7 (1997)
7. Bodman, M.A. , Brlan, M.R.  
Superficial white onychomycosis.  
J Am Podiatr Med Assoc 85(4) 205-8 (1995)
8. Bräutigam, M.  
Lamisil-Produktmonographie.  
Sandoz AG, Nürnberg (1996)
9. Ceschin Roques, C.G., Hanel, H., Pruja Bougaret, S.M., Luc, J., Vandermander, J., Michel, G.  
Ciclopirox nail lacquer 8%: in vivo penetration into and through nails and in vitro effect on pig skin.  
Skin Pharmacol 4(2) 89-94 (1991)
10. Chang, P. , Logemann, H.  
Onychomycosis in children.  
Int J Dermatol 33(8) 550-1 (1994)

11. Contet-Audonneau, N.  
Onychomycosis provoke by moulds.  
Nouv Dermatol 14 330-40 (1995)
12. Daniel, C.R., Norton, L.A., Scher, R.K.  
The spectrum of nail disease in patients with human immunodeficiency virus infection.  
J Am Acad Dermatol 27(1) 93-7 (1992)
13. De Doncker, P.R., Scher, R.K., Baran, R.L., Decroix, J., Degreef, H.J., Roseeuw, D.I., Havu, V., Rosen, T., Gupta, A.K., Pierard, G.E.  
Itraconazole therapy is effective for pedal onychomycosis caused by some nondermatophyte molds and in mixed infection with dermatophytes and molds: a multicenter study with 36 patients.  
J Am Acad Dermatol 36(2) 173-7 (1997)
14. De Vroey, P.  
Further studies on the in vitro antifungal activity of amorolfine.  
Mycoses 39 41-4 (1996)
15. Dompmartin, D., Dompmartin, A., Deluol, A.M., Grosshans, E., Coulaud, J.P.  
Onychomycosis and AIDS. Clinical and laboratory findings in 62 patients.  
Int J Dermatol 29(5) 337-9 (1990)
16. Drake, L.A., Patrick, D.L., Fleckman, P., Andr, J., Baran, R., Haneke, E., Sapede, C., Tosti, A.  
The impact of onychomycosis on quality of life: development of an international onychomycosis-specific questionnaire to measure patient quality of life.  
J Am Acad Dermatol 41(2) 189-96 (1999)
17. Dvorak, J., Hubalek, Z., Otcenasek, M.  
Survival of dermatophytes in human skin scales.  
Arch Dermatol 98(5) 540-2 (1968)
18. Effendy, I.  
Nagelmykosen - Klinik, Diagnose und Therapie.  
Georg Thieme Verlag, Stuttgart (2001)
19. Effendy, I.  
Pilzinfektionen der Nägel.  
Tägl Prax 33 793-801 (1992)



20. Effendy, I.  
Therapeutic strategies in onychomycosis.  
J Eur Acad Derm Venerol 4(1) 3-10 (1995)
21. Effendy, I., Kolczak, H., Ossowski, B., Hohler, T.  
Topical therapy of onychomycoses with 8% ciclopirox laquer. An open, non-comparative study.  
Fortschr Med 111(12) 205-8 (1993)
22. English, M.P.  
Nails and fungi.  
Br J Dermatol 94(6) 697-701 (1976)
23. English, M.P., Atkinson, R.  
An improved method for the isolation of fungi in onychomycosis.  
Br J Dermatol 88(3) 237-41 (1973)
24. Evans, E.G., Sigurgeirsson, B.  
Double blind, randomised study of continuous terbinafine compared with intermittent itraconazole in treatment of toenail onychomycosis. The LION Study Group see comments.  
BMJ 318(7190) 1031-5 (1999)
25. Faergemann, J., Laufen, H.  
Levels of fluconazole in normal and diseased nails during and after treatment of onychomycoses in toe-nails with fluconazole 150 mg once weekly.  
Acta Derm Venereol 76(3) 219-21 (1996)
26. Finlay, A.Y.  
Pharmacokinetics of terbinafine in the nail.  
Br J Dermatol 126 Suppl 39 28-32 (1992)
27. Ginter, G., Rieger, E., Heigl, K., Propst, E.  
Increasing frequency of onychomycoses--is there a change in the spectrum of infectious agents?  
Mycoses 39 Suppl 1 118-22 (1996)
28. Götz, H., Hertlein, A.  
Züchtung von Dermatophyten durch Cycloheximid-Kaliumtellurit-Selektivnährböden und Soforteinsaat des Untersuchungsmaterials.  
Dermatol Wochenschrift 13 12-3 (1961)
29. Goudard, M., Regli, P., Lubrano, N.  
In vitro antifungal spectrum of ciclopiroxolamine Spectre antifongique in vitro de la ciclopiroxolamine.  
Pathol Biol Paris 37(5) 621-3 (1989)

30. Granade, T.C., Artis, W.M.  
Antimycotic susceptibility testing of dermatophytes in microcultures with a standardized fragmented mycelial inoculum.  
*Antimicrob Agents Chemother* 17(4) 725-9 (1980)
31. Gregory, N.  
Special patient populations: onychomycosis in the HIV-positive patient.  
*J Am Acad Dermatol* 35 13-6 (1996)
32. Gudnadottir, G., Hilmarsdottir, I., Sigurgeirsson, B.  
Onychomycosis in Icelandic swimmers.  
*Acta Derm Venereol* 79(5) 376-7 (1999)
33. Gupta, A.K., Lynde, C.W., Jain, H.C., Sibbald, R.G., Elewski, B.E., Daniel, C.R., 3rd, Watteel, G.N., Summerbell, R.C.  
A higher prevalence of onychomycosis in psoriatics compared with non-psoriatics: a multicentre study.  
*Br J Dermatol* 136(5) 786-9 (1997)
34. Gupta, A.K., Sibbald, R.G., Lynde, C.W., Hull, P.R., Prussick, R., Shear, N.H., De Doncker, P., Daniel, C.R., 3rd, Elewski, B.E.  
Onychomycosis in children: prevalence and treatment strategies.  
*J Am Acad Dermatol* 36(3 Pt 1) 395-402 (1997)
35. Haneke, E.  
Achilles foot-screening project: background, objectives and design.  
*J Eur Acad Dermatol Venereol* 12 Suppl 1 2-5 (1999)
36. Haneke, E.  
Fungal infections of the nail.  
*Semin Dermatol* 10(1) 41-53 (1991)
37. Haneke, E.  
Nail biopsies in onychomycosis.  
*Mykosen* 28(10) 473-80 (1985)
38. Haneke, E.  
Therapy of onychomycoses Therapie der Nagelmykosen.  
*Hautarzt* 44(5) 335-46 (1993)
39. Haneke, E., Roseeuw, D.  
The scope of onychomycosis: epidemiology and clinical features.  
*Int J Dermatol* 38 Suppl 2 7-12 (1999)

40. Haria, M., Bryson, H.M., Goa, K.L.  
Itraconazole. A reappraisal of its pharmacological properties and therapeutic use in the management of superficial fungal infections.  
Drugs 51(4) 585-620 (1996)
41. Heikkila, H.  
Isolation of fungi from onychomycosis-suspected nails by two methods: clipping and drilling.  
Mycoses 39 479-82 (1996)
42. Heikkila, H., Stubb, S.  
The prevalence of onychomycosis in Finland.  
Clin Exp Dermatol 133 699-703 (1995)
43. Heller, J.  
Nagelerkrankungen als Symptome von Hauterkrankungen.  
Jadassohn's Hb Haut-Geschl-Krkh Bd. XIII(2) (1927)
44. Jain, S., Sehgal, V.N.  
Onychomycosis: an epidemio-etilogic perspective.  
J Int Dermatol 39(2) 100-3 (2000)
45. Jessner, M.  
Über eine neue Form von Nagelmykosen (Leukonychia trichophytica).  
Arch Derm Syph 141 1-8 (1952)
46. Kalter, D.C., Hay, R.J.  
Onychomycosis due to Trichophyton soudanense.  
Clin Exp Dermatol 13(4) 221-7 (1988)
47. Knudsen, E.A.  
The survival of dermatophytes from tape strippings of skin.  
Sabouraudia 18(2) 145-8 (1980)
48. Kolczak, H.  
Die Bedeutung der Nagelabrasion für Diagnostik und Lokaltherapie der Onychomykosen.  
Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin aus dem fachbereich Humanmedizin der Philipps- Universität Marburg (1987)
49. Korting, H.C., Georgii, A.  
Antimykotikatestung dermato-venerologisch bedeutsamer Hefen: Methoden, Ergebnisse und klinische Relevanz.  
Hautarzt 39(6) 343-7 (1988)

50. Korting, H.C., Ollert, M., Abeck, D.  
Results of German multicenter study of antimicrobial susceptibilities of *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton mentagrophytes* strains causing tinea unguium. German Collaborative Dermatophyte Drug Susceptibility Study Group.  
*Antimicrob Agents Chemother* 39(5) 1206-8 (1995)
51. Korting, H.C., Schaller, M.  
Neue Entwicklungen in der medizinischen Mykologie.  
*Hautarzt* 52 91-7 (2001)
52. Lauharanta, J.  
Comparative efficacy and safety of amorolfine nail lacquer 2% versus 5% once weekly.  
*Clin Exp Dermatol* 17 Suppl 1 41-3 (1992)
53. Levy, L.A.  
Epidemiology of onychomycosis in special-risk populations.  
*J Am Podiatr Med Assoc* 87(12) 546-50 (1997)
54. Löffler, H., Effendy, I.  
Mykosen beim alten Menschen.  
*TW Dermatologie* 27 237-41 (1997)
55. Lubeck, D.P., Patrick, D.L., McNulty, P., Fifer, S.K., Birnbaum, J.  
Quality of life of persons with onychomycosis.  
*Qual Life Res* 2(5) 341-8 (1993)
56. McAleer, R.  
Fungal infections of the nails in Western Australia.  
*Mycopathologia* 73(2) 115-20 (1981)
57. Mensing, H., Polak Wyss, A., Splanemann, V.  
Determination of the subungual antifungal activity of amorolfine after 1 month's treatment in patients with onychomycosis: comparison of two nail lacquer formulations.  
*Clin Exp Dermatol* 17 Suppl 1 29-32 (1992)
58. Metzger, S., Hofmann, H.  
Fluconazole-resistant *Candida* species from HIV infected patients with recurrent *Candida* stomatitis: cross resistance to itraconazole and ketoconazole.  
*Mycoses* 40 Suppl 1 56-63 (1997)
59. Niewerth, M., Korting, H.C.  
Management of onychomycoses.  
*Drugs* 58(2) 283-96 (1999)

60. Niewerth, M., Splanemann, V., Korting, H.C., Ring, J., Abeck, D.  
Antimicrobial susceptibility testing of dermatophytes--comparison  
of the agar macrodilution and broth microdilution tests.  
*Chemotherapy* 44(1) 31-5 (1998)
61. Nolting, S., Korting, H.C.  
Epidemiologie und Pathologie der Onychomykosen.  
Springer Verlag Berlin Heidelberg (1989)
62. Nolting, S., Seebacher, C.  
Ciclopiroxolamin- Wegweiser topischer Mykose-Therapie.  
Universitätsverlag Jena GmbH, Jena (1993)
63. Nowicki, A.  
Darstellung der Beziehung- J.L. Schönlein und R. Remak (Erste  
Schritte auf dem Gebiet der medizinischen Mykologie).  
Janssen Pharmaceutica, Neuss (1985)
64. Ploysangam, T., Lucky, A.W.  
Childhood white superficial onychomycosis caused by  
*Trichophyton rubrum*: report of seven cases and review of the  
literature.  
*J Am Acad Dermatol* 36(1) 29-32 (1997)
65. Polak, A.  
Kinetics of amorolfine in human nails.  
*Mycoses* 36(3-4) 101-3 (1993)
66. Polak, A.  
Preclinical data and mode of action of amorolfine.  
*Dermatology* 184 Suppl 1 3-7 (1992)
67. Qiangqiang, Z., Jiajun, W., Li, L.  
Storage of fungi using sterile distilled water or lyophilization:  
comparison after 12 years.  
*Mycoses* 41(5-6) 255-7 (1998)
68. Quadripur, A.  
Pilze und Pilzerkrankungen.  
Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1996)
69. Reinel, D.  
Topical treatment of onychomycosis with amorolfine 5% nail  
lacquer: comparative efficacy and tolerability of once and twice  
weekly use.  
*Dermatology* 184 Suppl 1 21-4 (1992)

70. Rich, P.  
Special patient populations: onychomycosis in the diabetic patient.  
J Am Acad Dermatol 35(3 Pt 2) S10-2 (1996)
71. Rieth, H.  
Mykologische Diagnostik.  
Merck KG, Darmstadt (1980)
72. Rippon, J.W.  
Elastase: production by ringworm fungi.  
Science 157(3791) 947 (1967)
73. Roberts, D.T.  
Prevalence of dermatophyte onychomycosis in the United Kingdom: results of an omnibus survey.  
Br J Dermatol 126 Suppl 39 23-7 (1992)
74. Rosen, T.  
New approaches to the diagnosis and management of onychomycosis. International Symposium, Monaco, April 1-2, 1993.  
Int J Dermatol 33(4) 292-9 (1994)
75. Rosenthal, T.  
Early nineteenth century dermatology and the brothers Mahon.  
Arch Derm Syph 30 245-50 (1934)
76. Sais, G., Jucgla, A., Peyri, J.  
Prevalence of dermatophyte onychomycosis in Spain: a cross-sectional study.  
Br J Dermatol 132(5) 758-61 (1995)
77. Schadewaldt, H.  
First steps of medical mycology in Germany (author's transl).  
Mykosen 24(11) 654-67 (1981)
78. Schatz, F., Brautigam, M., Dobrowolski, E., Effendy, I., Haberl, H., Mensing, H., Weidinger, G., Stutz, A.  
Nail incorporation kinetics of terbinafine in onychomycosis patients.  
Clin Exp Dermatol 20(5) 377-83 (1995)
79. Scher, R.K.  
Once-weekly fluconazole (150, 300 or 450 mg) in the treatment of distal subungual onychomycosis of the toenail.  
J Am Acad Dermatol 38 77-86 (1998)

80. Schmalreck, A.F.  
Susceptibility testing of fluconazole: evaluation of a multicenter study of the working group "Clinical Mycology" of the German Speaking Mycological Society.  
*Mycoses* 39 Suppl 2 1-11 (1996)
81. Schmalreck, A.F., Fegeler, W.  
Criteria for a microdilution susceptibility testing method of fluconazole: proposal of a standardized testing method for yeasts.  
*Mycoses* 39 Suppl 2 12-6 (1996)
82. Schmalreck, A.F., Kottmann, I., Reiser, A., Ruffer, U., Scharr, E., Vanca, E.  
An evaluation of seven methods of testing in vitro susceptibility of clinical yeast isolates to fluconazole.  
*Mycoses*. 38(9-10) 359-68 (1995)
83. Schmalreck, A.F., Kottmann, I., Reiser, A., Ruffer, U., Vanca, E.  
Susceptibility testing of yeasts against fluconazole: comparison of the Etest method with microdilution and agar dilution.  
*Mycoses* 39 Suppl 2 31-8 (1996)
84. Schonborn, C.  
The long-time survival of dermatophytes and moulds under paraffin oil.  
*Mycoses* 32(7) 349-53 (1989)
85. Schonborn, C., Schmoranz, H.  
Mold infections of the toe nails.  
*Mykosen* 13(5) 253-72 (1970)
86. Seebacher, C.  
Fungal flora of diseased and healthy toenails.  
*Mykosen* 11(12) 893-902 (1968)
87. Seebacher, C.  
Limits of brief treatment of onychomycoses.  
*Hautarzt* 49(9) 705-8 (1998)
88. Summerbell, R.C., Kane, J., Krajden, S.  
Onychomycosis, tinea pedis and tinea manuum caused by non-dermatophytic filamentous fungi.  
*Mycoses* 32(12) 609-19 (1989)
89. Tappeiner, J., Male, O.  
Nagelveränderungen durch Schimmelpilze.  
*Derm Int* 5 145 (1966)

90. Tausch, I., Brautigam, M., Weidinger, G., Jones, T.C.  
Evaluation of 6 weeks treatment of terbinafine in tinea unguium in a double-blind trial comparing 6 and 12 weeks therapy. The Lagos V Study Group.  
Br J Dermatol. 136(5) 737-42 (1997)
91. Tebbe, B., Boyvat, A., Geilen, C.C., Wolfer, L.U., Seibold, M., Orfanos, C.E.  
Clinical fluconazole and itraconazole resistance of oro-gastrointestinal candidiasis in a patient with AIDS.  
Hautarzt 47(2) 136-9 (1996)
92. Tosti, A., Baran, R., Piraccini, B.M., Fanti, P.A.  
"Endonyx" onychomycosis: a new modality of nail invasion by dermatophytes.  
Acta Derm Venereol 79(1) 52-3 (1999)
93. Tosti, A., Piraccini, B.M., Mariani, R., Stinchi, C., Buttasi, C.  
Are local and systemic conditions important for the development of onychomycosis?  
Eur J Dermatol 8(1) 41-4 (1998)
94. Tosti, A., Piraccini, B.M., Stinchi, C., Lorenzi, S.  
Onychomycosis due to *Scopulariopsis brevicaulis*: clinical features and response to systemic antifungals.  
Br J Dermatol 135(5) 799-802 (1996)
95. Van Doorslaer, E.K., Tormans, G., Gupta, A.K., Van Rossem, K., Eggleston, A., Dubois, D.J., De Doncker, P., Haneke, E.  
Economic evaluation of antifungal agents in the treatment of toenail onychomycosis in Germany.  
Dermatology 193(3) 239-44 (1996)
96. Vanbreuseghem, R.  
Prevalence of onychomycoses in Zaire, especially in sugar cane cutters.  
Ann Soc Belg Med Trop 57(1) 7-15 (1977)
97. Vanden Bossche, H., Dromer, F., Improvisi, I., Lozano-Chiu, M., Rex, J.H., Sanglard, D.  
Antifungal drug resistance in pathogenic fungi.  
Med Mycol 36 Suppl 1 119-28 (1998)
98. Weismann, K., Knudsen, E.A., Pedersen, C.  
White nails in AIDS/ARC due to *Trichophyton rubrum* infection.  
Clin Exp Dermatol 13(1) 24-5 (1988)



99. White, T.C., Marr, K.A., Bowden, R.A.  
Clinical, cellular, and molecular factors that contribute to antifungal drug resistance.  
*Clin Microbiol Rev* 11(2) 382-402 (1998)
100. Wildfeuer, A., Laufen, H., Schmalreck, A.F., Yeates, R.A., Zimmermann, T.  
Fluconazole: comparison of pharmacokinetics, therapy and in vitro susceptibility of yeasts.  
*Mycoses* 39 Suppl 2 51-7 (1996)
101. Wildfeuer, A., Seidl, H.P.  
Comparison of the in vitro activity of fluconazole against *Candida albicans* and dermatophytes.  
*Arzneimittelforschung* 45(7) 819-21 (1995)
102. Zaias, N.  
Clinical manifestations of onychomycosis.  
*Clin Exp Dermatol* 17 Suppl 1 6-7 (1992)
103. Zaias, N.  
Onychomycosis.  
*Dermatol Clin* 3(3) 445-60 (1985)
104. Zaias, N.  
Onychomycosis.  
*Arch Dermatol* 105(2) 263-74 (1972)
105. Zaias, N., Glick, B., Rebell, G.  
Diagnosing and treating onychomycosis.  
*J Fam Pract* 42(5) 513-8 (1996)
106. Zaug, M., Bergstraesser, M.  
Amorolfine in the treatment of onychomycoses and dermatomycoses (an overview).  
*Clin Exp Dermatol* 17 Suppl 1 61-70 (1992)

## Anhang

### Anamnesebogen

Patientenaufkleber

Beruf:

Bestehensdauer der Onychomykose:

Vorangegangene Therapie:

Vorausgegangene oder noch bestehende Tinea:

Lokalisation der Onychomykose:

Vorerkrankungen:

Medikamente:

### **Prädisponierende Faktoren**

Angiopathien :

Periphere Neuropathien :

Wiederholte Traumen :

Diabetes mellitus :

Endokrinopathien und  
Stoffwechselstörungen :

Immunologische Störungen :

Abgefräste Nägel:

Nachgewiesener Erreger:

# Patienteninformation

## Sehr geehrter Patient,

sie leiden sehr wahrscheinlich an einer Nagelpilzerkrankung (Onychomykose). Die Zeichen dieser Erkrankung sind eine Verdickung und eine Verfärbung der Nagelplatte. Bei sehr starkem Befall können die Nägel sogar zerbröckeln (Onychodystrophie).

Um genau herauszufinden, ob es sich um einen Pilz oder eine andere Erkrankung bei Ihnen handelt, benötigen wir Nagelmaterial, um es genauer untersuchen zu können.

Für die Behandlung einer Nagelpilzerkrankung ist es wichtig, daß die Nagelplatte so dünn wie möglich gehalten wird, damit die Medikamente besser in das Nagelmaterial gelangen können.

Im Rahmen einer Studie bieten wir Ihnen an, Ihre befallene Nägel mittels einer elektrischen Fräse abzuschleifen und somit zu verdünnen. Normalerweise müssten sie dies selber machen oder zum Fußpfleger gehen. Das Abschleifen der Nägel schmerzt nicht, da die Nägel nicht mit Nerven versorgt werden.

Ein Teil des gewonnenen Nagelmaterials wird sofort auf einen Nährboden gegeben und nach ca. 3 Wochen kann man sehen, ob ein Pilz gewachsen ist und um welche Pilzart es sich handelt. Der andere Teil des Nagelmaterials wird zu Studienzwecken gebraucht. Bei dieser Studie soll untersucht werden, wie lange die Pilze in der Nagelspäne überleben und ob sich mit der Zeit die Empfindlichkeit der Pilze auf verschiedene Antimykotika (Anti-Pilzmedikamente) ändert.

Ihre persönlichen Daten werden selbstverständlich vertraulich behandelt und anonymisiert. Sie sind nur dem Studienleiter (Prof. Dr. I. Effendy) und Herrn Kai Straßmann bekannt.

Für weitere Fragen stehen wir Ihnen selbstverständlich gerne zur Verfügung.

Prof. Dr. I. Effendy  
Ltd. Oberarzt

Kai Straßmann  
Cand. med.

## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mir bei der Erstellung dieser Arbeit behilflich waren.

Mein erster Dank geht an Herrn Prof. Dr. R. Happle, dass ich in der Hautklinik der Universität Marburg die Arbeiten für diese Studie durchführen konnte.

Mein größter Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Isaak Effendy für die Überlassung des Themas und die jederzeit freundliche Beratung sowohl in fachlicher als auch persönlicher Hinsicht.

Ein weiterer Dank geht an Frau Dr. Simone Dannenberg für die Einarbeitung in die mikrobiologischen Arbeitstechniken.

Zudem möchte ich mich bei allen Mitarbeitern der Universitäts-Hautklinik Marburg für die Hilfe bei der Patientenrekrutierung, der Laborarbeit und Erstellung der Photographien ganz herzlich bedanken. Hier seien vor allem Frau Ronneberger, die Mitarbeiter der Allergie-Ambulanz und des mykologischen Labors genannt.

Den Firmen Aventis Pharma Deutschland GmbH, Galderma Laboratorium GmbH, Janssen-Cilag GmbH, Novartis Pharma GmbH und Pfizer GmbH danke ich für die kostenlose Überlassung der getesteten Antimykotika.

Mein letzter Dank geht an meine Freundin Heike, die mich während der Erstellung dieser Arbeit immer liebevoll unterstützt hat.

## Lebenslauf

### Persönliche Daten

|               |   |
|---------------|---|
| Name          | Kai Straßmann                                 |
| Anschrift     | Zur Verlach 61, 40723 Hilden<br>☎ 02103/64551 |
| Geburtsdatum  | 20.11.1971                                    |
| Geburtsort    | Wuppertal                                     |
| Konfession    | Evangelisch                                   |
| Familienstand | Ledig   |

### Schul Ausbildung

|             |   |
|-------------|---|
| 1978 - 1982 | Grundschule Goldenberg, Remscheid                                 |
| 1982 - 1991 | Ernst - Moritz - Arndt - Gymnasium Remscheid,<br>Abitur- Note 2,5 |

### Zivildienst

|             |                                   |
|-------------|-----------------------------------|
| 1991 - 1992 | Fabricius - Klinik Remscheid GmbH |
|-------------|-----------------------------------|

### Studium

|                   |   |
|-------------------|---|
| 04/1993 - 04/1999 | Philipps - Universität Marburg  |
| 04/1999 - 04/2000 | Praktisches Jahr, Wahlfach Dermatologie<br>Klinikum Wuppertal GmbH (Lehrkrankenhaus der<br>Heinrich - Heine Universität Düsseldorf) |

### Ärztliche Prüfungen

|               |                      |
|---------------|----------------------|
| Frühjahr 1995 | Ärztliche Vorprüfung |
| Frühjahr 1996 | 1.Abschnitt          |

|                           |   |                       |
|---------------------------|---|-----------------------|
| Frühjahr 1999             | 2.Abschnitt   |                       |
| 29.5.2000                 | 3. Abschnitt  | Gesamtnote gut (1,99) |
| Vorläufige<br>Approbation | 19.06.2000  |                       |
| Approbation               | 15.01.2002  |                       |
| Berufliche Tätigkeit      |   |                       |
| Seit dem 15.07.2000       | Arzt im Praktikum in der Abteilung für Nephrologie<br>und Innere Medizin (Direktor Prof. Dr. med. P.<br>Heering), Städtisches Klinikum Solingen<br>Weiterbeschäftigung als Assistenzarzt seit dem<br>15.01.2002 |                       |

Hilden, den 27.11.2003

## Verzeichnis der akademischen Lehrer in Marburg

|              |             |                  |
|--------------|-------------|------------------|
| Amon         | Hilgermann  | Oertel           |
| Arnold       | Huffmann    | Pfab             |
| Aumüller     | Joseph      | Pohlen           |
| Basler       | Kaffarnik   | Remschmidt       |
| Bauer        | Kern        | Riedmiller       |
| Baum         | Kleine      | Rieger           |
| Beato        | Kleinsasser | Rothmund         |
| Blankenburg  | Klenk       | Schachtschabel   |
| Bode         | Klose       | Schmitz-Moormann |
| Christiansen | Krause      | Schneider        |
| Daume        | Kretschmer  | Schüffel         |
| Daut         | Krieg       | Schulz           |
| Drenckhahn   | Kroll       | Schwerk          |
| Effendy      | Kummer      | Seifart          |
| Egbring      | Kuni        | Seitz            |
| Emmons       | Kußmann     | Seyberth         |
| Eschenbach   | Küster      | Siegrist         |
| Fruhstorfer  | Lang        | Slenzka          |
| Fuhrmann     | Lange       | Steininger       |
| Ganz         | Lauer       | Stinner          |
| Gemsa        | Lennartz    | Thomas           |
| Geus         | Lorenz      | Ulmar            |
| Golenhofen   | Lührmann    | Unsicker         |
| Gotzen       | Maisch      | v. Wichert       |
| Gressner     | Mannheim    | Voigt            |
| Griss        | Mannherz    | Wagner           |
| Grzeschik    | Massarrat   | Wiegand          |
| Habermehl    | Mennel      |                  |
| Happle       | Moll        |                  |
| Havemann     | Oepen       |                  |



Meine akademischen Lehrer in Wuppertal waren die Herren Dávid, Haneke, Ingianni, Köbberling und Zirngiebel.